

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON (I)
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1976 - N° 128

ÉTUDE COMPARÉE DES RÉACTIONS
D'HÉMAGGLUTINATION PASSIVE
ET DE NEUTRALISATION APPLIQUÉES
AU DIAGNOSTIC DES INFECTIONS
A HERPES VIRUS TYPES 1 et 2

THÈSE

présentée

à l'Université Claude Bernard - LYON

Unité d'Enseignement et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques
et soutenue publiquement le 23 décembre 1976
pour obtenir le grade de Docteur d'Etat en Pharmacie

par

Madame SEBTI LARAKI Nezha

née le 12 avril 1947

à FES (Maroc)

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON II
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACIQUES

Année 1978 - N° 128

ÉTUDE COMPARÉE DES RÉACTIONS
D'HÉMAGGLUTINATION PASSIVE
ET DE NEUTRALISATION APPLIQUÉES
AU DIAGNOSTIC DES INFECTIONS
À HERPÈS VIRUS TYPES 1 et 2

THÈSE

présentée

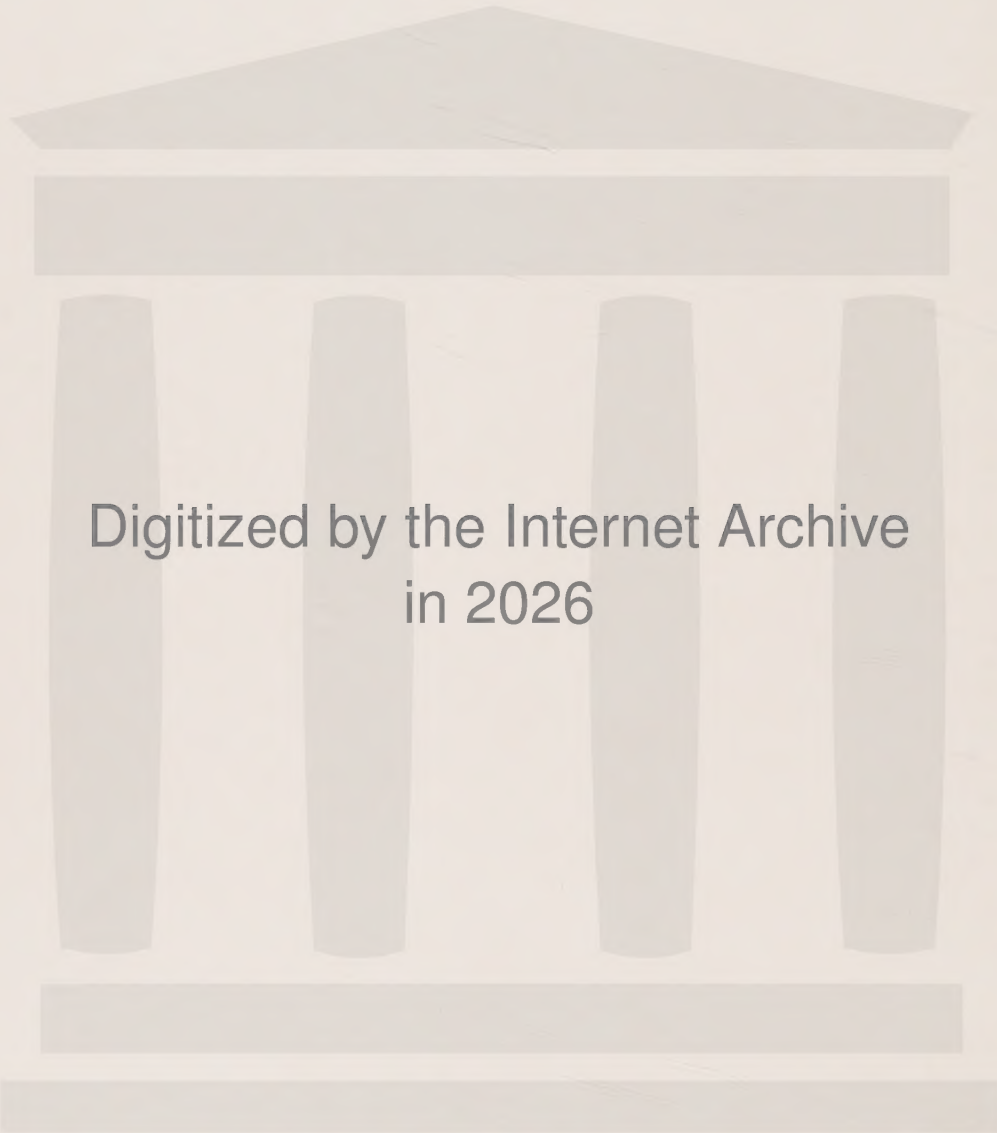
à l'Université Claude Bernard - LYON

Unité d'Enseignement et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques
et soutenue publiquement le 25 décembre 1978
pour obtenir le grade de Docteur d'État en Pharmacie

par

Madame SIBYL LAPART Nicole

Association Amicale des Étudiants en Pharmacie de Lyon
8, avenue Rockefeller - 69008 LYON - Tél. (78) 74-40-37



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553602_0032

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON (I)
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1976 - N° 128

ÉTUDE COMPARÉE DES RÉACTIONS
D'HÉMAGGLUTINATION PASSIVE
ET DE NEUTRALISATION APPLIQUÉES
AU DIAGNOSTIC DES INFECTIONS
A HERPES VIRUS TYPES 1 et 2

THÈSE

présentée

à l'Université Claude Bernard - LYON

Unité d'Enseignement et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques
et soutenue publiquement le 23 décembre 1976
pour obtenir le grade de Docteur d'Etat en Pharmacie

par

Madame SEBTI LARAKI Nezha

née le 12 avril 1947

à FES (Maroc)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON III
UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1979 - 1980

ÉTUDE COMPARÉE DES RÉACTIONS
D'HÉMATAGGLUTINATION PASSIVE
ET DE NEUTRALISATION APLIQUES
AU DIAGNOSTIC DES INFECTIONS
A HERPES VIRUS TYPES 1 ET 2



THÈSE

présentée

à l'Université Claude Bernard - LYON III
Unité d'Enseignement et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques
et soutenue publiquement le 23 décembre 1979
pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences Pharmaceutiques

par

Monsieur ZHOU KARAI Natcha

né le 12 mai 1957

à Tse (Chine)

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD

PRESIDENT : M. le Professeur D. GERMAIN

PREMIER VICE-PRESIDENT : M. le Professeur ELBAZ

DEUXIEME VICE-PRESIDENT : M. P. PONCET, Maître-assistant

TROISIEME VICE-PRESIDENT : M. C. BADOR, Etudiant

SECRETAIRE GENERAL DE L'UNIVERSITE : M. J. RAMBAUD, Administrateur Civil

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE (U.E.R.)

MEDICALES : GRANGE-BLANCHE

M. le Docteur B. SALLE, Maître de Conférences Agrégé

ALEXIS-CARREL

Monsieur le Professeur C. GIROD

LYON-NORD

Monsieur le Professeur J.P. GARIN

SUD-OUEST

Monsieur le Professeur J. ROBERT

SCIENCES PHARMACEUTIQUES :

M. le Professeur L. ODDOUX

TECHNIQUES DE READAPTATION :

M. A. MORGON, Maître de Conférences Agrégé

BIOLOGIE HUMAINE :

M. le Professeur J.C. CZYBA

EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE :

M. A. MILLON, Professeur d'E.P.S.

SCIENCES ODONTOLOGIQUES :

M. le Docteur R. VINCENT

MATHEMATIQUES :

M. le Professeur G. MAURY

PHYSIQUE :

M. le Professeur R. UZAN

CHIMIE ET BIOCHIMIE :

M. le Professeur J. HUET

SCIENCES DE LA NATURE :

M. le Professeur J. BRUN

SCIENCES PHYSIOLOGIQUES :

M. R. FONTANGES, Maître de Conférences Agrégé

PHYSIQUE NUCLEAIRE :

M. le Professeur A. SARAZIN

MECANIQUE :

M. le Professeur J. MATHIEU

I.U.T. 1 :

M. le Professeur B. POUYET

I.U.T. 2 :

M. J. GALLET, Directeur E.N.S.A.M.

OBSERVATOIRE DE LYON :

M. le Professeur J.H. BIGAY

A mon mari

A mon fils

A mes grands parents

A mes parents

A ma soeur

A mes beaux parents

A tous les miens

A tous mes amis

A notre MAITRE,

Monsieur le Professeur R. SOHIER

Qui le premier, nous fit connaître et
aimer la virologie.

Nous avons été très heureuse de compter
parmi ses élèves et nous lui renouvelons
notre admiration et notre profond respect.

A notre PRESIDENT DE THESE,

Madame le Professeur M. AYMARD

Elle nous a accueillie dans son laboratoire
avec beaucoup de bienveillance.

Nous lui sommes très reconnaissante de l'honneur
qu'elle nous fait en acceptant de présider notre
thèse et l'assurons de notre respectueux
dévouement.

A nos JUGES,

Monsieur le Professeur L. ODDOUX

Qui nous prodigue les marques de sa bienveillance
en nous faisant l'honneur de juger notre thèse.
Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse
reconnaissance.

Monsieur le Professeur J. GRAS

Nous avons bénéficié de son enseignement clair et
méthodique et apprécié la précision de sa pensée.
Son amitié, son attention bienveillante, ont été pour
nous un encouragement constant.
Nous le prions de croire à notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur J. TERRAILLON

Il nous a fait l'honneur de juger notre thèse.
Qu'il trouve ici le témoignage de notre profonde
gratitude.

A Monsieur le Professeur A. ALAQUI

Qui a bien voulu nous donner la possibilité
d'effectuer ce travail.

Nous sommes heureuse de lui témoigner ici toute
notre reconnaissance et le prions de croire à
notre respectueux attachement.

A Mademoiselle le Docteur M. LANGLOIS

Sa collaboration enthousiaste et compétente lui
a acquis toute notre amitié.

A Madame D. SUBLET

Mademoiselle G. BLONDEAU

Elles nous ont constamment aidée et soutenue au
cours de notre travail.

Avec toute notre amitié.

A tous les membres du Laboratoire de Bactériologie -
Virologie - Immunologie LYON

Nous les remercions bien vivement de
l'accueil chaleureux qu'ils nous ont réservé.

A tous mes collègues et membres du Laboratoire du
C.H.U. d'Avicenne RABAT

Avec toute notre sympathie

INTRODUCTION

Le virus de l'herpès simplex pose des problèmes importants en pathologie humaine. Il intervient dans de nombreuses manifestations cliniques qui diffèrent selon leurs localisations orales, génitales ou généralisées, selon qu'il s'agit d'une primo infection ou d'une récurrence.

Ce virus peut causer des lésions ulcératives orales et génitales mais aussi des gingivostomatites, kératites, éruptions varicelliformes et des encéphalites souvent graves. Il est responsable d'avortements, de malformations congénitales et parfois même d'une septicémie néonatale presque toujours mortelle ainsi que de maladies plus ou moins sévères chez des sujets dont le système immunitaire est déprimé.

De nombreuses études ont abouti au fait qu'il existait deux sérotypes du virus herpétique qui ont une différenciation biologique caractéristique :

- le type 1, principalement associé aux lésions de la face,
- le type 2, aux lésions de l'appareil génital DOWDLE (1967).

L'épidémiologie des affections à virus herpès type 2 a pris un grand intérêt depuis que NAHMIAS (1968) puis RAWLS (1968)(1976) ont montré la relation du type 2 avec le cancer du col utérin. De même, les infections néonatales sont fréquemment dues au type 2 : NAHMIAS (1969), SCHNEWEIS (1967).

Devant le pouvoir transformant expérimental du type 2 et le rôle qu'il peut avoir dans l'étiologie de certains cancers humains : TARRO (1973) et DENT (1974), on peut s'expliquer le nombre de recherches dont fait l'objet ce virus ainsi que sur la différenciation de ses deux types.

Structure antigénique du virus herpétique

Pour expliquer la récurrence de l'herpès, on a été amené à se demander, depuis longtemps, s'il n'existait pas plusieurs types antigéni-

ques du virus herpétique.

. Utilisant la réaction de fixation du complément, HAYWARD (1950) puis KILBOURNE (1951), avaient admis qu'il n'y avait qu'un seul type antigénique.

. Mais l'étude antigénique par séroneutralisation in vivo et in vitro :SCHNEWEIS (1962), PLUMMER (1964) et NAHMIAS (1968) laissait supposer l'existence de deux types antigéniques distincts. L'existence d'un troisième type supposée par SCHUBLADZE n'a pas été confirmée (1959).

.SCHNEWEIS (1967) et DOWDLE (1967) ont classé les différentes souches antigéniques en types ; PLUMMER (1968) les a classées en sous-types et SCHUBLADZE (1960) en groupes (les groupes 1 et 3 apparaissent comme antigéniquement distincts d'après PLUMMER (1964), PAULS et DOWDLE (1967).

Un certain nombre de souches ont été étudiées en commun par chacun de ces laboratoires. Leur classification est résumée dans le tableau suivant :

TABLEAU 1

CLASSIFICATION DE SOUCHES DE VIRUS HERPETIQUES
PAR DIFFERENTS LABORATOIRES

SOUCHES	SCHUBLADZE	SCHNEWEIS	PLUMMER	DOWDLE
	Groupes	Types	Sous-types	Types
L2	1		1	1
US	3		2	2
MS			2	2
HF		1		1
PET		1		1
KER		2		2
mP			1	1

. Plus récemment, SIM et WATSON (1973) ont montré, par la réaction de neutralisation, qu'il existait un antigène commun nommé BAND II et deux antigènes spécifiques de type pour le virus herpétique. Par ailleurs, SETH (1974) utilisant la neutralisation cinétique et les tests de libération du 51 Cr, suggère qu'il peut exister deux sous-groupes du type 2 nommés α et β . ADELUSI (1976) a mis en évidence un antigène apparenté au sous-type 2 (HT₂) de l'herpès type 2 dans les cellules provenant de patientes atteintes de cancer du col.

Actuellement, la plupart des auteurs admettent l'existence de deux sérotypes du virus herpétique : le type 1 et le type 2.

Différenciation des infections à virus herpès types 1 et 2

I - Par l'identification du virus -

Malgré les nombreuses études faites dans le but de différencier les types 1 et 2 de l'herpès virus, aucun critère isolé ne permet de dire qu'une souche appartient au type 1 ou au type 2. Seule l'association de plusieurs critères permet, le plus souvent, de classer les virus en 2 types.

A . Méthodes non immunologiques .

a . Caractères biochimiques .

. GOODHEAT (1968) et KIEFF (1971) ont indiqué des différences de densité et de composition du DNA de ces deux types. C'est ainsi qu'en 1974 PLUMMER a démontré que la densité du DNA du type 1 est de 1,725, celle du DNA du type 2 est de 1,727.

. HALLIBURTON (1975) confirme qu'il pouvait y avoir des différences de densité du virus entier : les souches du type 2 sont plus denses que les souches du type 1.

b . Effet cytopathique sur oeuf embryonné et cellules .

. Le diamètre des vésicules formées par le type 2 sur membrane chorio-allantoïdienne de l'oeuf embryonné est environ trois fois plus

grand que celui des vésicules formées par le type 1 : NAHMIAS (1968) ; PLUMMER (1974) ; PIRAINO (1974).

. La morphologie des plages sur cellules primaires de rein de lapin est différente pour les deux types : les plages produites par le type 2 ont des bords nets tandis que celles qui sont produites par le type 1 ont des bords flous : PLUMMER (1974).

Les plages formées sur d'autres types de cultures cellulaires par le type 2 sont, en général, plus grandes que celles qui sont formées par le type 1 : LEINIKKI (1973) ; KIMURA (1973) ; LANCK (1974) ; WESTMORELAND (1974) ; YANG (1975).

c . Pouvoir pathogène expérimental .

. PLUMMER et coll. (1968) ont montré que les souches de type 2, inoculées par voie intra-musculaire à des lapins ou des souris, sont plus neurovirulentes que les souches de type 1. De même, les souriceaux de trois semaines sont plus sensibles au type 2 qu'au type 1, inoculés par voie intra cérébrale : PLUMMER (1970).

. Les lésions produites sur la cornée des lapins sont plus sévères avec les souches du type 2 qu'avec les souches du type 1 : OH et coll. (1972). Le type 1 induit des lésions qui se développent très rapidement : HUDSON (1976).

. L'hépatite nécrosante en foyers chez la souris a été utilisée comme un marqueur biologique pour la différenciation des types 1 et 2 : MOGENSON (1974) (1976).

Les lésions dans le foie des souris infectées avec le type 2 sont plus précoces et plus sévères que celles qui sont obtenues avec le type 1.

d . Autres méthodes de différenciation .

D'autres méthodes ont été tentées pour différencier les deux types du virus de l'herpès simplex.

. Sensibilité à l'héparine : les souches de type 1 sont beaucoup plus sensibles à l'action inhibitrice de l'héparine que les souches de type 2 : PLUMMER (1968) ; MARKS - HELLMAN (1976).

. Propriété de la thymidine kinase : cette thymidine kinase (TK)

induite dans les cellules infectées par le virus de type 1 est généralement plus thermostable que celle qui est induite par le type 2 : DAVID et coll. (1974).

. Sensibilité à la température : RATCLIFFE (1971) et LONGSON (1971) ont testé l'influence de la température sur la multiplication des deux sérotypes du virus de l'herpès simplex : les souches de type 1 se multiplient assez bien à une température de 40°, tandis que les souches de type 2 sont thermolabiles.

LANGLOIS (1975) a utilisé la thermosensibilité pour la différenciation des deux types et a défini trois comportements différents des souches d'herpès :

- des souches thermostables (type 1)
- des souches thermosensibles (type 2)
- des souches dites intermédiaires.

B . Méthodes immunologiques .

1 . La réaction de fixation du complément étudiée par HAYWARD (1950) ne permet pas la différenciation des types.

2 . L'étude antigénique du virus de l'herpès simplex a été réalisée ensuite par la réaction de neutralisation.

PAULS et DOWDLE (1967), DOWDLE et coll. (1967) utilisant la neutralisation ordinaire ont décrit deux antigènes spécifiques de type (1 et 2). Mais cette technique donnant des résultats insuffisants, on a utilisé la micro-neutralisation ainsi que la neutralisation cinétique qui améliore la différenciation entre les deux types : WHEELER et coll. (1969) ; GOLOGAN et coll. (1974).

Ces techniques sont basées sur le fait qu'un sérum neutralise plus rapidement et plus complètement la souche homologue qu'une souche hétérologue.

. NAHMIAS (1968) utilisant les tests de microneutralisation à l'aide de sérums de lapins a démontré que la plupart des souches génitales (type 2) sont différentes des souches non génitales (type 1).

Le pouvoir neutralisant moyen : PN est égal à

$$pN = \log (c - a - 1,16) + t + 0,23$$

$c = \log_{10} \text{ DICT}_{50} \quad (1) \quad \text{du virus de contrôle}$

$a = \text{dilution du virus utilisé}$

$t = \log_{10} \text{ du titre du sérum neutralisant } 50 \text{ p. } 100 \text{ de l'effet cytopathique.}$

Les valeurs de différence de pN (type 1 - type 2)

- supérieures à + 0,5 représentent une réponse due au type 1
- inférieures à + 0,05 représentent une réponse due au type 2
- + 0,05 à + 0,5 représentent une réponse intermédiaire.

. RAWLS a étudié les deux types par neutralisation cinétique :

Le pourcentage de neutralisation est exprimé par la valeur K selon la formule de Mc BRIDE.

$$K = \frac{\text{inverse de la dilution du sérum}}{\text{temps (2 min.)}} \times 2,3 \log \frac{\text{titre du virus (temps I)}}{\text{titre du virus (après 2 min.)}}$$

$K < 3,8$: type 1

$K > 3,8$: type 2

La valeur de l'index $\frac{II}{I}$ est calculée selon la formule :

$$\text{Index } \frac{II}{I} = \frac{\log_{10} \text{ titre en anticorps anti type 2}}{\log_{10} \text{ titre en anticorps anti type 1}} \times 100$$

$$\frac{II}{I} < 85 \quad . \quad \text{Type 1}$$

$$\frac{II}{I} > 85 \quad . \quad \text{Type 2}$$

3 . L'immunofluorescence directe a été utilisée par NAHMIAS (1969) (1971) pour la différenciation des souches. Cette méthode consiste à engager un sérum de lapin anti herpès type 1 ou type 2 conjugué à la fluoresceïne vis-à-vis des souches d'herpès virus. Les cellules infectées par le type 1 montrent des granules de fluorescen-

(1) DICT_{50} : dose infectieuse pour culture de tissu à 50 p. 100

ces intranucléaires tandis que les cellules infectées par le type 2 donnent une fluorescence diffuse et plus marquée à la périphérie du noyau.

Cette méthode fut reprise par LEINIKKI (1971) puis par NAHMIAS (1974). Il apparaît que le sérum anti type 1 réagit avec les deux types d'herpès tandis que le sérum anti-type2 réagit essentiellement avec le virus type 2 homologue.

L'immunofluorescence directe offre l'avantage d'être une technique rapide et même plus sensible que la microneutralisation puisque plusieurs souches non typées en microneutralisation le sont en immunofluorescence.

. LEINIKKI (1973) a utilisé l'immunofluorescence indirecte en comparaison avec les marqueurs biologiques pour typer les souches d'herpès. L'association de ces techniques : effet cytopathique sur cellules BSC₁, plaques formées sur cellules vero, et immunofluorescence indirecte offre une méthode sûre pour le diagnostic de type de l'herpès virus.

. Cette technique d'immunofluorescence indirecte fut reprise par FRASER et coll. (1974) puis par DOERR et coll. (1974) qui ont décrit les deux antigènes spécifiques de type.

4 . JEANSON (1972) a utilisé l'immuno-électro-osmophorèse pour différencier les souches d'herpès virus type 1 et type 2. Ce test est facile et rapide et surtout permet la réalisation de l'ensemble des réactions avec de faibles quantités de sérums et d'antigènes. WESTER GAARD (1973) puis SCHNEWEIS (1974) ont montré que cette technique a permis la différenciation des types.

5 . L'étude de la différenciation des types de l'herpès-virus a suscité d'autres travaux :

. immunoperoxydase indirecte : BENJAMIN (1974) l'a utilisée pour typer les souches d'herpès virus en comparaison avec la neutralisation cinétique. Cette technique semble beaucoup plus simple à réaliser et à interpréter que la neutralisation cinétique et est rapide pour le typage antigénique de routine des isoléments d'herpès.

. l'épreuve d'agglutination mixte : ITO (1974) qui consiste à fixer des anticorps anti herpès types 1 et 2 de lapins sur des cellules infectées. Cette fixation est révélée par un indicateur : globules rouges de mouton + sérum de lapin anti globules rouges de mouton + sérum de mouton anti globulines de lapin. Ce sérum de mouton anti globulines de lapin sert de "pont" entre les anticorps de lapin éventuellement fixés sur les cellules infectées et l'indicateur.

Des réactions croisées ont été obtenues en utilisant cette épreuve d'agglutination mixte pour la détection de l'antigène de surface du virus herpétique sur les cellules infectées.

6 . Réaction d'hémagglutination passive :

. Dès 1970, FUCILLO a montré qu'il était possible, par la réaction d'hémagglutination passive, de différencier les deux types du virus herpétique.

Cette technique est sensible puisque les titres obtenus par cet auteur sont 4 à 8 fois plus élevés que ceux obtenus en microneutralisation et HURAUX (1971) en a vérifié la spécificité.

.SCHNEWEIS et NAHMIAS (1971) ; BACK et SCHMIDT (1974) ont comparé la réaction d'hémagglutination passive à d'autres méthodes et ont confirmé qu'elle était très sensible.

II - Par l'étude sérologique -

La réaction de fixation du complément met en évidence des anticorps herpétiques circulants sans présumer du type de virus en cause dans l'infection : ARTZET (1961).

. TOKUMARU (1965) a utilisé la réaction d'immuno diffusion en gel qui paraît être une bonne technique pour le diagnostic des infections à herpès simplex chez des sujets récemment traités par des immunsérums ou des gammaglobulines.

. Plusieurs techniques ont été étudiées pour identifier les infections à herpès type 1 et type 2.

. NAHMIAS (1970) a utilisé la microneutralisation pour la recherche des anticorps anti herpès types 1 et 2 et a montré une plus grande fréquence des anticorps anti herpès type 2 chez les sujets âgés de plus de 14 ans, chez les individus infectés par le virus herpès type 2 (herpès génital) ainsi que chez les patientes atteintes d'un cancer du col.

. FUCILLO (1970) a étudié les réactions de neutralisation et d'héماغglutination passive pour identifier le type du virus en cause dans les infections à herpès types 1 et 2. Les résultats ont montré que la réaction de neutralisation permettait d'identifier l'infection due au type 1 et la réaction d'héماغglutination passive l'infection due au type 2.

. LERNER (1972) a repris la technique d'héماغglutination passive et a montré la prédominance du type 1 chez les adultes et du type 2 chez les nouveaux-nés.

. BACK (1974) a constaté que cette méthode permettait le diagnostic sérologique des infections à virus herpès type 2 chez les adultes atteints d'une méningo encéphalite. FREYMUTH (1975) a observé une différence nette des anticorps héماغglutinants anti type 2 chez les patientes atteintes d'un cancer du col par rapport aux témoins.

. LEINIKKI (1971) a titré les anticorps par immunofluorescence directe et a observé des réactions croisées surtout avec le type 1.

. Enfin FORGHANI (1974 - 1975) a utilisé la technique radio-immunologique en phase solide pour le titrage des anticorps anti herpès types 1 et 2 dans les sérums humains. Il en a conclu que cette technique était très sensible et que les résultats étaient en accord avec ceux obtenus par les réactions de neutralisation et d'héماغglutination passive.

Les différents travaux concernant la différenciation des deux types d'herpès simplex par les méthodes immunologiques pour l'identification des souches et par le diagnostic sérologique des infections à virus herpès types 1 et 2 sont résumés dans le tableau II.

TABEAU 11

DIFFERENCIATION DES DEUX TYPES D'HERPES VIRUS SIMPLEX

AUTEURS	ANNEE	TECHNIQUE UTILISEE	RESULTATS - DIFFERENCIATION DU TYPE 1 et 2	
			TYPE 1	TYPE 2
NAHMIAS	1968	Micro-neutralisation Sérums de lapins	pN > + 0,5 pN = + 0,05 à + 0,5 : infection par les 2 types	pN < + 0,05 pN < + 0,05 : infection par les 2 types
	1970	Micro-neutralisation Sérums humains	pN > + 0,5 pN = + 0,05 à + 0,5 : infection par les 2 types	pN < + 0,05 pN < + 0,05 : infection par les 2 types
RAWLS	1968	Neutralisation cinétique	K < 3,8	K > 3,8
	1969	Réduction sur plaques	$\frac{II}{I} = 52 \text{ à } 76$	$\frac{II}{I} = 85 \text{ à } 135$
	1970	Micro-neutralisation	réaction sensible	réaction sensible
NAHMIAS	1969 1971	IF directe	présence de granules de fluorescence intra-nuclé- res	absence de granules ; fluorescence diffuse
LEINIKKI	1971	IF directe	plusieurs réactions croisées	très peu de réactions croisées
	1973	IF indirecte + marqueurs biologiques	spécificité de type	spécificité de type
FRASER	1974	IF indirecte	spécificité de type	spécificité de type
DOERR	1974	IF indirecte	spécificité de type	spécificité de type
JEANSON	1972	IEOP	2 lignes de précipité avec antigène homologue 1 ligne de précipité avec antigène hétérologue	2 lignes de précipité avec antigène homologue 2 lignes de précipité avec antigène hétérologue
WESTERGAARD	1973	IEOP	Spécificité de type	Spécificité de type
SCHNEWEIS	1974	IEOP	Spécificité de type	Spécificité de type
BENJAMIN	1974	Immunoperoxydase indirecte	réaction sensible spécificité de type	réaction sensible spécificité de type
FORGHANI	1974	RI en phase solide	réaction très sensible	réaction très sensible
	1975	RI en phase solide		
ITO	1974	Agglutination mixte Sérums de lapins	réaction croisée	réaction croisée
FUCILLO	1970	HP	Réaction sensible	réaction sensible
HURAU	1971	HP	Spécificité de type	Spécificité de type
LERNER	1972	HP	Surtout chez adultes	Chez nouveaux-nés
BACK	1974	HP	Spécificité de type	Spécificité de type

IF : immuno-fluorescence

IEOP : immuno-électro-osmophorèse

HP : hémagglutination passive

RI : méthode radio-immunologique

Nous avons essayé, en 1974, d'appliquer la réaction d'héماغglutination passive à l'identification des souches et au diagnostic sérologique de l'infection herpétique dans le but d'identifier le type du virus en cause.

Nous nous étions intéressée à l'évolution des anticorps au cours de primo infections ou d'herpès récurrent et nous avons cherché à différencier, par cette technique, les sérotypes 1 et 2. Par ailleurs, nous avons procédé à une enquête séro-épidémiologique afin d'étudier la fréquence et la répartition des infections herpétiques au sein des familles car il était intéressant de préciser si cette infection était intra-familiale.

Nous avons poursuivi ce travail en essayant de faire une étude approfondie de la mise au point de la réaction d'héماغglutination passive à l'identification des souches.

Par ailleurs, nous avons tenté de faire une étude plus poussée de la valeur de la réaction d'héماغglutination passive comparée à celle de la réaction de neutralisation.

Pour ceci, nous avons utilisé des sérums de lapins immunisés vis-à-vis des différentes souches de référence anti herpès types 1 et 2.

Nous avons fait des essais de détermination de la spécificité de ces réactions ainsi que de la qualité des anticorps détectés par l'une ou l'autre méthode et avons tenté l'étude des anticorps sériques élaborés par l'animal en réponse à une infection herpétique.

M A T E R I E L e t M E T H O D E S

CHAPITRE I

MATERIEL UTILISE

I . LES VIRUS .

A - SOUCHES DE REFERENCE -

Ces souches nous ont été envoyées par un certain nombre de laboratoires spécialisés dans l'étude du virus herpétique.

1 . Herpès simplex type 1 .

. Souche herpès simplex type 1 envoyée par le Dr RATCLIFFE-APPLETON (Laboratory central Public Health, London, England) : souche 101711 isolée en 1954 du visage d'une femme adulte. Elle a été cultivée sur oeuf, sur cellules Véro.

. Souche F : HSV 1 fournie par le Dr ROIZMAN (Université de Chicago, U.S.A.).

. Souche ZE 22 (2) isolée par le Dr ROBBINS (Ecole de Médecine de Harvard, Département de pédiatrie, U.S.A.) d'une gingivo-stomatite et envoyée par le Dr GAJDUSEK (National Institute of Health, Bethesda, U.S.A.).

2 . Herpès simplex type 2 .

. Souche herpès simplex type 2 envoyée par le Dr RATCLIFFE-APPLETON : souche BRYAN remise par le Pr WILDY (pas d'autres informations).

B - SOUCHES DE TRAVAIL -

Au cours de notre précédent travail concernant la réaction d'hémagglutination passive appliquée au diagnostic des infections à virus herpès types 1 et 2, nous avons utilisé comme souche de travail la souche

BAIN isolée au laboratoire.

. Souche BAIN .

Cette souche a été isolée dans le laboratoire à partir d'un prélèvement cutané provenant d'un malade atteint d'un herpès récurrent. Le prélèvement de vésicules a été inoculé à des cellules de rein de singe lors du premier passage ; les passages ultérieurs ont été faits sur cellules RK 13.

La réaction de fixation du complément a permis d'identifier un virus herpétique et la réaction de neutralisation a permis de préciser qu'il s'agissait d'un virus herpès type 1.

. Par contre, il ne nous avait pas été possible d'isoler, à partir des prélèvements reçus au laboratoire, un virus herpès type 2. C'est pourquoi nous avons utilisé, au cours de notre travail, la souche de référence BENFIELD.

C - PREPARATION DES ANTIGENES -

1 . Pour l'immunisation des animaux .

a - antigène viral -

Le virus est inoculé sur cellules RK 13, mises en culture dans des fioles de Roux. Elles sont utilisées le 3ème jour lorsque la nappe cellulaire est confluite.

Le jour de l'inoculation, le milieu de croissance est remplacé par du milieu de survie (milieu 199 sans sérum de veau) à raison de 90 ml par fiole de Roux. On introduit 5 ml de virus pur par fiole de Roux pour obtenir un effet cytopathique (E.C.P.) complet avec chute des cellules infectées 3 jours plus tard. L'incubation se fait à 35°.

Le 3ème jour après l'inoculation, lorsque la dégénérescence des cellules est obtenue, on récolte et on mélange le contenu des fioles de

Roux. On centrifuge à 2500 t/min. pendant 15 mn (centrifugeuse JOUAN réfrigérée). Le surnageant sert d'antigène pour immuniser les animaux.

b - antigène "normal" : suspension de cellules non infectées.

Nous avons suivi exactement la même technique que précédemment, mais on inocule 5 ml de PBS pH = 7,2 (tampon phosphaté salé) à la place du virus.

2 . Pour la réaction de neutralisation .

Il s'agit simplement d'inoculer le virus sur des cellules RK 13 et de le récolter lorsqu'il a produit le maximum d'E.C.P.

L'antigène est conservé, sous faible volume à - 70°.

3 . Pour la réaction d'hémagglutination passive .

La préparation de l'antigène pour cette réaction sera décrite en détail dans le chapitre II (p. 32).

II . LES CELLULES .

Les cellules utilisées sont des cellules RK 13 ("rabbit kidney" clone 13) fournies par le Dr DEKKING (Amsterdam, Hollande). Il s'agit d'une lignée cellulaire entretenue en monocouche. Ces cellules sont mises en culture dans du milieu Parker 199 (Parker - 1950) auquel on ajoute 10 p. 100 de sérum de veau inactivé à 56° pendant 30 min. (milieu de croissance). Elles sont entretenues dans des bouteilles de verre ou de plastique. Lorsque les cellules sont confluentes, elles sont soumises à l'action d'une solution de versène + trypsine : SOHIER (1964), le versène est mis à chauffer préalablement au bain-marie à 37°, la trypsine est ajoutée au moment de l'emploi pour obtenir une concentration de 0,5 p. 100.

Après un contact de 2 min., les cellules se détachent de la paroi et sont mises en suspension dans la solution de versène + trypsine. Le tout est centrifugé à 2 000 tours/min. pendant 5 min. Le surnageant est

rejeté et le culot cellulaire est repris dans du milieu de croissance pour être émulsionné à la pipette. Les cellules sont numérees à l'aide d'un hématimètre de Bürker.

On répartit ensuite ces cellules à raison de 10 millions de cellules par fiole de Roux auxquelles on ajoute 90 à 100 ml de milieu de croissance par flacon ; ceci pour entretenir une souche.

Pour la réaction de neutralisation en micro méthode , la concentration de la suspension cellulaire est de 300 000 cellules par millilitre.

La croissance s'effectue à 37°.

Le "Spleet" ou taux de multiplication est de 3.

La nappe cellulaire est confluyente au 3ème jour et les cellules peuvent être utilisées dès ce moment.

En pratique, les cellules RK 13 sont repiquées deux fois par semaine.

III . LES SERUMS .

A - SERUM DE REFERENCE -

Ce sérum nous a été envoyé par un laboratoire spécialisé : sérum de lapin anti-herpès type 2 fourni par le Dr NAHMIAS.

On ne dispose pas de sérum de référence anti herpès type 1.

B - SERUMS PREPARES AU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE - IMMUNOLOGIE -

Afin de mettre en oeuvre les techniques d'identification des virus herpétiques, type 1 et type 2, nous avons utilisé, au cours de notre précédent travail, des immunsérums de lapins correspondants, préparés dans notre laboratoire (1).

(1) Laboratoire de Bactériologie - Virologie - Immunologie (Pr AYMARD, LYON).

Les animaux ont été inoculés avec les souches virales suivantes :

- type 1 : souche BAIN
- type 2 : souche BENFIELD.

Quatre lapins ont été immunisés par voie intra-musculaire :

- Sérums "lapin 152" }
 "lapin 153" } type 1
- Sérums "lapin 158" }
 "lapin 159" } type 2

Il est à noter que les sérums anti type 2 (souche BENFIELD) ont été préparés selon un protocole d'immunisation différent de celui utilisé pour les sérums anti type 1 (souche BAIN) et pour tous les sérums de travail préparés à l'Institut d'Hygiène (RABAT, Maroc).

Ce protocole d'immunisation est résumé dans le tableau III.

C - SÉRUMS DE TRAVAIL PRÉPARÉS À L'INSTITUT D'HYGIÈNE -

Pour essayer d'étendre l'application des techniques d'identification des souches d'herpès virus, nous avons immunisé des lapins avec les souches de référence herpès type 1 et type 2 :

- Type 1 : souches RATCLIFFE, ROIZMAN, Z de GAJDUSEK
- Type 2 : souches RATCLIFFE, ROIZMAN, BENFIELD.

La préparation de l'antigène viral ayant servi à l'immunisation des animaux a été faite au laboratoire de Virologie du C.H.U. d'Avicenne Rabat (Pr ALAQUI). (•)

Les sérums sont préparés sur des lapins mâles tout venant.

Les lapins ont été numérotés pour faciliter l'étiquetage des sérums.

(•) Nous remercions Madame le Professeur AYMARD de nous avoir fourni les cellules RK 13 et les souches de référence.

TABLEAU III
PREPARATION DES SERUMS DE LAPINS ANTI TYPE 2 A PARTIR DE LA SOUCHE BENFIELD

Immunisation par voie intramusculaire

	Saignée avant inoculation	1ère injection	2ème injection	3ème injection	4ème injection	Saignée Oreille	Rappel	Saignée Oreille	Autre injection	2ème injection	3ème injection	Saignée à blanc
		Jour 0	+ 7 jours	+14 jours	+21 jours	+21 jours	+45 jours	+52 jours	7 mois après	+ 6 jours	+12 jours	+26 jours
Lapin 158	Sérum n° 99 458	5 ml 4-79	5 ml 4-79	5 ml 4-79	5 ml 4-79 D C D							
Lapin 159	Sérum n° 99 459	5 ml 4-79	5 ml 4-79	5 ml 4-79	5 ml 4-79	Sérum 44-5	5 ml 4-79	Sérum 44-8	5 ml 4-78	5 ml 4-100	5 ml 4-100	Sérum 44-11

L'immunisation est effectuée par injection de :

10^6 DICT₅₀ dans 5 ml : Souche BENFIELD

Avant immunisation, les lapins sont saignés à la veine marginale de l'oreille pour vérifier l'absence de tout anticorps contre l'herpès virus.

Deux protocoles d'immunisations ont été utilisés.
Ces protocoles sont décrits dans les tableaux IV à VII.

1 . Immunisation par voie intra-musculaire .

Vingt lapins ont été inoculés par voie intra-musculaire :

- lapins 1, 2, 3..... : souche RATCLIFFE type 2
- lapins 4, 5, 6..... : souche BENFIELD type 2
- lapins 7, 8, 9..... : souche ROIZMAN type 2
- lapins 10, 11, 12..... : souche Z de GAJDUSEK type 1
- lapins 13, 14, 15..... : souche RATCLIFFE type 1
- lapins 16, 17, 18..... : souche ROIZMAN type 1
- lapins 19, 20..... : suspension de cellules non infectées.

Les titres infectieux des antigènes viraux étant différents, nous avons cru bon, pour que les animaux reçoivent la même dose infectieuse du virus, d'inoculer aux lapins des volumes différents soit 1 ml ou 5 ml.

Cependant, pour les antigènes qui ont un titre infectieux plus élevé : environ 10^5 DICT 50 / 0,05 ml à 3 jours, un lapin sur trois a reçu 5 ml d'antigène viral. En effet, nous ne pouvions pas supposer l'action de la suspension antigénique elle-même sur la réponse immunologique des animaux.

Pour ce qui est de l'antigène "normal" (suspension de cellules non infectées) deux lapins ont reçu 5 ml de cette suspension cellulaire.

L'immunisation se fait au moyen de quatre injections intra-musculaires de 1 ou 5 ml chacune d'antigène viral à raison d'une injection par semaine pendant un mois.

Après ces quatre inoculations, les lapins sont saignés à l'oreille et reçoivent une injection de rappel. Ils sont saignés 15 jours plus tard, soit 49 jours après le début de l'immunisation. Une autre saignée a été effec-

tuée 3 mois 26 jours après le début de l'immunisation.

2 . Immunisation par voie intra-veineuse .

Sept lapins ont été inoculés par voie intra-veineuse :

- lapin 21..... : suspension de cellules non infectées
- lapin 22..... : souche RATCLIFFE type 2
- lapin 23..... : souche BENFIELD type 2
- lapin 24..... : souche ROIZMAN type 2
- lapin 25..... : souche Z de GAJDUSEK type 1
- lapin 26..... : souche RATCLIFFE type 1
- lapin 27..... : souche ROIZMAN type 1.

L'immunisation se fait au moyen d'une seule injection intra-veineuse de 1 ml ou 5 ml en fonction du titre infectieux de l'antigène viral.

Après cette inoculation, quatre saignées sont effectuées à une semaine d'intervalle.

Les prélèvements de sang sont laissés à la température du laboratoire pendant une nuit.

Après décantation, les sérums répartis sous faible volume, sont conservés à - 20°.

TABLEAU IV

PRÉPARATION DES SÉRUMS DE LAPINS ANTI-TYPE 2 A PARTIR DES SOUCHES : . RATCLIFFE
 . ROIZMAN
 . BENFIELD

Immunsation par voie intramusculaire

	Saignée avant inoculation	1ère injection jour 0	2ème injection + 6 jours	3ème injection + 13 jours	4ème injection + 20 jours	Saignée Oreille + 34 jours	Rappel + 34 jours	Saignée Oreille + 49 jours	Saignée Oreille + 3 mois 26 jours
<u>Souche RATCLIFFE</u>									
Lapin 1	Sérum n° 1	5 ml 4-121	5 ml 4-121	5 ml 4-121	5 ml 4-121	Sérum n° 1-1	5 ml 4-121	Sérum n° 1-2	D C D
Lapin 2	Sérum n° 2	5 ml 4-121	5 ml 4-121	5 ml 4-121	5 ml 4-121	Sérum n° 2-1	5 ml 4-121	Sérum n° 2-2	Sérum n° 2-3
Lapin 3	Sérum n° 3	5 ml 4-121	5 ml 4-121	5 ml 4-121	5 ml 4-121	Sérum n° 3-1	5 ml 4-121	Sérum n° 3-2	Sérum n° 3-3
<u>Souche BENFIELD</u>									
Lapin 4	Sérum n° 4	1 ml 4-199	1 ml 4-199	1 ml 4-199	1 ml 4-199	Sérum n° 4-1	1 ml 4-199	Sérum n° 4-2	Sérum n° 4-3
Lapin 5	Sérum n° 5	1 ml 4-199	1 ml 4-199	1 ml 4-199	1 ml 4-199	Sérum n° 5-1	1 ml 4-199	Sérum n° 5-2	D C D
Lapin 6	Sérum n° 6	5 ml 4-199	5 ml 4-199	5 ml 4-199	5 ml 4-199	Sérum n° 6-1	5 ml 4-199	Sérum n° 6-2	Sérum n° 6-3
<u>Souche ROIZMAN</u>									
Lapin 7	Sérum n° 7	5 ml 4-113	5 ml 4-113	5 ml 4-113	5 ml 4-113	Sérum n° 7-1	5 ml 4-113	Sérum n° 7-2	Sérum n° 7-3
Lapin 8	Sérum n° 8	5 ml 4-113	5 ml 4-113	5 ml 4-113	5 ml 4-113	Sérum n° 8-1	5 ml 4-113	Sérum n° 8-2	Sérum n° 8-3
Lapin 9	Sérum n° 9	5 ml 4-113	5 ml 4-113	5 ml 4-113	5 ml 4-113	D C D			

L'immunsation est effectuée par injection de :

10 5,83 DICT 50 dans 5 ml : Souche RATCLIFFE
 10 6,8 DICT 50 dans 1 ml }
 10 7,5 DICT 50 dans 5 ml } Souche BENFIELD
 10 5,5 DICT 50 dans 5 ml : Souche ROIZMAN

TABLEAU V

PREPARATION DES SERUMS DE LAPINS ANTI-TYPE 1 A PARTIR DES SOUCHES :

- RATCLIFFE
- ROIZMAN
- Z de GAJDUSEK
- BAIN

Immunisation par voie intramusculaire

	Saignée avant inoculation	1ère injection	2ème injection	3ème injection	4ème injection	Saignée Oreille	Reppel	Saignée Oreille	Saignée Oreille
		jour 0	+ 6 jours	+ 13 jours	+ 20 jours	+ 34 jours	+ 34 jours	+ 49 jours	+ 3 mois 26 jours
Souche Z de GAJDUSEK									
Lapin 10	Sérum n° 10	1 ml 4-200	1 ml 4-200	1 ml 4-200	1 ml 4-200	Sérum n° 10-1	1 ml 4-200	Sérum n° 11-2	Sérum n° 10-3
Lapin 11	Sérum n° 11	1 ml 4-200	1 ml 4-200	1 ml 4-200	1 ml 4-200	Sérum n° 11-1	1 ml 4-200	Sérum n° 11-2	Sérum n° 11-3
Lapin 12	Sérum n° 12	5 ml 4-200	5 ml 4-200	5 ml 4-200	5 ml 4-200	Sérum n° 12-1	5 ml 4-200	Sérum n° 12-2	Sérum n° 12-3
Souche RATCLIFFE									
Lapin 13	Sérum n° 13	1 ml 4-120	1 ml 4-120	1 ml 4-120	1 ml 4-120	Sérum n° 13-1	1 ml 4-120	Sérum n° 13-2	D C D
Lapin 14	Sérum n° 14	1 ml 4-120	1 ml 4-120	1 ml 4-120	1 ml 4-120	Sérum n° 14-1	1 ml 4-120	Sérum n° 14-2	Sérum n° 14-3
Lapin 15	Sérum n° 15	5 ml 4-120	5 ml 4-120	5 ml 4-120	5 ml 4-120	Sérum n° 15-1	5 ml 4-120	Sérum n° 15-2	D C D
Souche ROIZMAN									
Lapin 16	Sérum n° 16	5 ml 4-112	5 ml 4-112	5 ml 4-112	5 ml 4-112	D C D			
Lapin 17	Sérum n° 17	5 ml 4-112	5 ml 4-112	5 ml 4-112	5 ml 4-112	Sérum n° 17-1	5 ml 4-112	Sérum n° 17-2	D C D
Lapin 18	Sérum n° 18	5 ml 4-112	5 ml 4-112	5 ml 4-112	5 ml 4-112	Sérum n° 18-1	5 ml 4-112	Sérum n° 18-2	D C D
Souche BAIN									
Lapin 152	Sérum n° 99454	5 ml 4-67	5 ml 4-67	5 ml 4-67	5 ml 4-67	Sérum n° 44-3	5 ml 4-67	Sérum n° 44-6	
Lapin 153	Sérum n° 99455	5 ml 4-67	5 ml 4-67	5 ml 4-67	5 ml 4-67	Sérum n° 44-4	5 ml 4-67	Sérum n° 44-7	

L'immunisation est effectuée par injection de :

10 6,08 DICT 50 dans 1 ml } Souche Z 10 6,67 DICT 50 dans 1 ml } Souche RATCLIFFE 10 6,5 DICT 50 dans 5 ml } Souche ROIZMAN
10 6,78 DICT 50 dans 5 ml } 10 7,37 DICT 50 dans 5 ml } 10 6,5 DICT 50 dans 5 ml } Souche BAIN

TABEAU VI

PREPARATION DES SERUMS DE LAPINS A PARTIR DE "Ag NORMAL"

suspensions de cellules RK 13 non infectées

Immunisation par voie intramusculaire

	Saignée avant inoculation	1ère injection jour 0	2ème injection + 6 jours	3ème injection + 13 jours	4ème injection + 20 jours	Saignée + 34 jours	Rappel + 34 jours	Saignée + 49 jours	Saignée + 3 mois + 26 jours
Lapin 19	Sérum n° 19	5 ml Ag N	5 ml Ag N	5 ml Ag N	5 ml Ag N	Sérum n° 19-1	5 ml Ag N	Sérum n° 19-2	Sérum n° 19-3
Lapin 20	Sérum n° 20	5 ml Ag N	5 ml Ag N	5 ml Ag N	5 ml Ag N	Sérum n° 20-1	5 ml Ag N	Sérum n° 20-2	D C D

Immunisation par voie intraveineuse

	Saignée avant inoculation	1ère injection jour 0	Saignée + 6 jours	Saignée + 13 jours	Saignée + 20 jours	Saignée + 34 jours
Lapin 21	Sérum n° 21	5 ml Ag N	Sérum n° 21-1	Sérum n° 21-2	Sérum n° 21-3	Sérum n° 21-4

Ag N "Ag. normal" : suspension de cellules RK 13 non infectées

TABLEAU VII

PREPARATION DES SERUMS ANTI-TYPES 1 et 2 A PARTIR DES SOUCHES :
• RATCLIFFE Types 1 et 2
• ROIZMAN Types 1 et 2
• BENFIELD Type 2
• Z de GAJDOSEK Type 1

Immunisation par voie intraveineuse

	Saignée avant inoculation	lère injection jour 0	Saignée Oreille + 6 jours	Saignée Oreille + 13 jours	Saignée Oreille + 20 jours	Saignée Oreille + 34 jours
<u>Souche RATCLIFFE Type 2</u> Lapin 22	Sérum n° 22	5 ml 4-121	Sérum n° 22-1	Sérum n° 22-2	Sérum n° 22-3	Sérum n° 22-4
<u>Souche BENFIELD Type 2</u> Lapin 23	Sérum n° 23	1 ml 4-199	Sérum n° 23-1	Sérum n° 23-2	Sérum n° 23-3	Sérum n° 23-4
<u>Souche ROIZMAN Type 2</u> Lapin 24	Sérum n° 24	5 ml 4-113	Sérum n° 24-1	Sérum n° 24-2	Sérum n° 24-3	Sérum n° 24-4
<u>Souche Z Type 1</u> Lapin 25	Sérum n° 25	1 ml 4-200	Sérum n° 25-1	D C D		
<u>Souche RATCLIFFE Type 1</u> Lapin 26	Sérum n° 26	1 ml 4-120	Sérum n° 26-1	Sérum n° 26-2	Sérum n° 26-3	D C D
<u>Souche ROIZMAN Type 1</u> Lapin 27	Sérum n° 27	5 ml 4-112	D C D			

CHAPITRE II

METHODES

I . REACTION D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE .

A - LA REACTION PROPREMENT DITE -

1 . Principe de la méthode .

Il est possible de fixer certains antigènes, en particulier des virus, à la surface de particules inertes, telles que les hématies (GR) ; en présence d'anticorps spécifiques des antigènes ainsi fixés, on observe une hémagglutination.

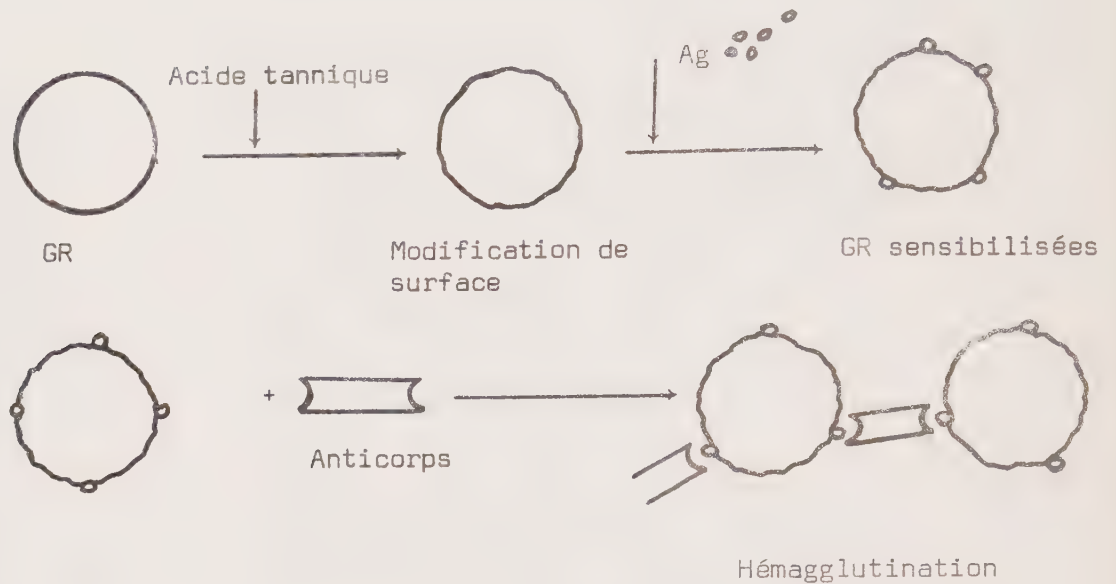
Ces antigènes ne sont pas naturellement présents sur la surface des hématies mais on les y a fixés artificiellement d'où le nom d'hémagglutination "passive" donné à la réaction.

Le premier procédé, proposé par BOYDEN en 1951, consiste à traiter les hématies par l'acide tannique : elles sont alors susceptibles de fixer les antigènes.

Les modalités de la réaction sont les suivantes :

- préparation éventuelle de la particule : hématies
- fixation de l'antigène
- mise en présence de ces hématies dites "sensibilisées" avec le sérum dans lequel on recherche l'anticorps correspondant (dans le cas où l'antigène est connu) ou contenant l'anticorps connu (dans le cas où c'est l'antigène que l'on cherche à identifier).

Nous pouvons schématiser ainsi le processus :



Les anticorps établiraient des ponts entre les particules antigéniques fixées à la surface des hématies.

2 . Rappel des travaux antérieurs .

Un certain nombre d'auteurs ont appliqué la technique d'hémagglutination passive à la recherche des anticorps anti-viraux autres que l'herpès.

AUTEURS	ANNEE	RECHERCHE DES ANTICORPS ANTI-VIRAUX
FREIDMANN et BENNET	1957	)
LEFKOWITZ	1968	(anticorps anti-adénovirus)
BERNSTEIN et STEWART	1971	anticorps anti-cytomégaliqes

En 1957, SCOTT et ses collaborateurs ont proposé cette réaction d'hémagglutination passive pour le diagnostic sérologique des infections à herpès simplex.

Par ailleurs, NAHMIAS (1968) a montré, le premier, qu'il était possible, par l'emploi de la micro-neutralisation, de différencier les infections herpétiques dues à l'herpès virus type 1 et type 2 et, à la suite de ces travaux, FUCILLO (1970) a titré les anticorps anti-herpès type 1 et type 2 chez 14 patients par la réaction d'hémagglutination passive.

HURAUX et coll. (1971) ont contrôlé la spécificité de cette technique au cours de primo-infections herpétiques chez l'enfant.

Enfin, LERNER (1972) a recherché ces anticorps dans le liquide céphalo-rachidien de sujets atteints d'encéphalite herpétique.

B - MISE AU POINT DE LA TECHNIQUE D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE POUR
L'IDENTIFICATION DES SOUCHES D'HERPES VIRUS TYPES 1 ET 2 ET POUR LE
SERODIAGNOSTIC DES INFECTIONS HERPETIQUES -

La réaction d'hémagglutination passive a été proposée par FUCILLO (1970) pour le diagnostic sérologique des infections herpétiques dues au type 1 et au type 2.

Il nous a paru intéressant de la mettre en oeuvre, afin d'en comparer les résultats avec ceux obtenus par fixation du complément et par neutralisation.

Nous avons utilisé la réaction telle qu'elle a été décrite par FUCILLO, puis nous avons été amenée à y apporter quelques modifications.

1 . Technique originale de FUCILLO (1970) .

1.1 . Réactifs utilisés .

. Virus : souche VR₃ (type 1))
(fournies par le Dr NAHMIAS
souche MS (type 2))

Ces souches ont été utilisées pour la production de l'antigène viral servant dans la réaction d'hémagglutination passive.

. Cellules : MA 196 (lignée de cellules de peau humaine).

- . Milieu de culture : milieu de Eagle additionné de 10 p. 100 de sérum de veau.
- . Hématies : hématies de mouton.
- . Solutions tampons : deux tampons phosphatés salés (PBS) (1) sont utilisés :
 - PBS pH = 7,2
 - PBS pH = 6,4.
- . Diluants :
 - sérum de lapin normal dilué à 1 p. 100 dans du PBS (pH = 7,2)
 - sérum de lapin normal inactivé par chauffage à 56° pendant 30 minutes et dilué à 2 p. 100 dans une solution de PBS.
- . Acide tannique (Fisher Scientific Co, Fairlawn, USA) dilué à 1/80 000 dans du PBS.
- . Sérums : ces sérums sont décomplémentés par chauffage à 56° pendant 30 minutes.

2.1 . Technique . Modification de la méthode de SCOTT (1957)

C'est une micro-méthode en plaques utilisant le matériel tel qu'il a été décrit par SEVER (1962).

. Les hématies de mouton, après trois lavages avec du PBS (pH = 7,2) sont diluées à 3 p. 100 et mélangées à un même volume d'une solution à 1 p. 80 000 d'acide tannique en PBS (pH = 7,2).

Après un contact de 15 minutes à 37°, ces hématies sont centrifugées à 600 g pendant 10 minutes, lavées au PBS, puis remises en suspension à 3 p. 100 en PBS (pH = 7,2).

. Fixation de l'antigène sur les hématies tannées :
Les antigènes sont dilués à 1/4 dans du PBS (pH = 6,4), mélangés à un volume égal de la suspension d'hématies tannées à 3 p. 100 et laissés en contact pendant 15 minutes à la température du laboratoire.

(1) Lire désormais pour PBS : tampon phosphaté salé (DULBECCO et VOGT, 1954).

Les hématies tannées ayant fixé l'antigène sont, alors, centrifugées à 600 g pendant 10 minutes à + 4°, puis lavées dans une solution de PBS (pH = 7,2) contenant 1 p. 100 de sérum de lapin normal.

Réaction :

Les réactifs sont toujours utilisés sous des volumes de 0,025 ml.

Le sérum à expertiser est dilué à 1/2 dans du diluant PBS (pH = 7,2) additionné de 2 p. 100 de sérum de lapin normal puis on ajoute dans chaque cupule 0,025 ml de ce diluant. On effectue des passages sous 0,025 ml et on ajoute 0,025 ml d'hématies tannées sensibilisées à 1 p. 100.

La lecture s'effectue après une heure et demie de contact à la température du laboratoire.

2 . Technique personnelle .

2.1 . Matériel .

- . Plaques en matière plastique creusées de cupules dont le fond est en forme de V.
- . Rhéomètre de Svedmyr.
- . Pipettes.

2.2 . Réactifs .

a) Antigènes

- . Souche BAIN (type 1)
- . Souche BENFIELD (type 2).

A partir de ces souches, nous avons préparé les antigènes selon la technique de HURAUX et coll. (1971). Ces antigènes sont destinés aussi bien à la fixation du complément qu'à la réaction d'hémagglutination passive.

Les deux souches sont cultivées sur cellules RK 13.

Trois jours après la mise en culture des cellules, la nappe cellulaire étant confluente, le milieu de croissance (milieu de Parker 199 additionné de 10 p. 100 de sérum de veau inactivé) est éliminé et remplacé par du milieu de Parker 199 sans sérum et on inocule le virus.

Le contact virus-cellules se fait à 35°. La dose de virus a été déterminée pour que la dégénérescence des cellules soit subtotale au bout de 3 jours. Puis, on centrifuge à 2 000 tours/min. pendant 15 minutes pour éliminer le surnageant. Le culot cellulaire est repris dans 1/10 du volume initial par une solution de PBS ($pH = 7$).

Après trois congélations et décongélations successives permettant l'éclatement des cellules et la libération du virus, puis centrifugation à 6 000 tours/min. pendant 10 minutes (centrifugeuse Beckman L3-40, rotor SW41), le surnageant constitue l'antigène qui est réparti sous faible volume et conservé à - 70°.

b) Hématies

Nous avons utilisé deux sortes d'hématies :

- . Hématies de mouton prélevées et conservées dans une solution d'Alsever (BUKANTZ, 1946). Un volume d'Alsever pour un volume de sang total.

<u>Formule</u>	Glucose	20	g
	Citrate de sodium	8	g
	Chlorure de sodium	4	2 g
	Eau distillée q.s.p.	1 000	ml

Le pH est ajusté avec une solution d'acide citrique à 5 p. 100.

- . Hématies de mouton du commerce (1).

On ne connaît pas de liquide de conservation de ces hématies.

Au moment de l'emploi, les hématies sont lavées 3 fois avec une solution de PBS ($pH = 7,2$). Le liquide surnageant doit être limpide.

(1) Globules rouges de l'Institut Mérieux : Sachet de 5 ml de GR à 50 p. 100 du culot.

c) Diluants

On utilise les diluants suivants :

- Solutions tampons :

Deux solutions tampons sont utilisées :

. PBS (pH = 7,2) :

- 100 ml NaCl à 0,3 M
- 23,9 ml de KH_2PO_4 à 0,15 M
- 76,1 ml de Na_2HPO_4 à 0,15 M

. PBS (pH = 6,4) :

- 100 ml de NaCl à 0,3 M
- 32,2 ml de Na_2HPO_4 à 0,15 M
- 67,7 ml de KH_2PO_4 à 0,15 M

Le pH de ces solutions est vérifié à l'aide d'un pHmètre avant chaque réaction.

- Diluant : sérum de lapin.

Le sérum utilisé est un sérum de lapin (non immunisé), chauffé à 56° pendant 30 minutes. Il est absorbé sur des cellules RK13 puis sur des hématies tannées (voir traitement des sérums, p. 15).

Ce sérum traité peut être conservé à - 20° et dilué au moment de l'utilisation aux dilutions finales de 1/100 et 2/100 dans du PBS pH = 7,2.

d) Acide tannique

L'acide tannique (Merck) est utilisé à la dilution finale de 1/50 000.

Pour chaque réaction, la dilution d'acide tannique est préparée extemporanément.

2.3 . Etude des facteurs pouvant intervenir dans la technique d'héماغglutination passive .

Les résultats obtenus par la technique de FUCILLO n'ayant pas été pleinement satisfaisants, nous avons étudié séparément les différents paramètres intervenant dans la réaction, ainsi que l'avait fait SCOTT (1961), afin d'apporter d'éventuelles modifications permettant d'améliorer les résultats. Ces différents paramètres ayant été précisés, nous avons alors adopté un protocole qui a ensuite été le même pour l'ensemble de notre expérimentation.

Nous avons étudié :

- la durée de conservation des hématies
- la concentration de l'acide tannique
- le temps de contact hématies-acide tannique
- la conservation des antigènes
- le temps de contact antigène-hématies
- le traitement et la conservation des sérums.

a) Durée de conservation des hématies de mouton

Nous avons, tout d'abord, travaillé avec les hématies du commerce généralement utilisées dans le laboratoire. Selon leur durée de conservation, les témoins virus étaient agglutinés ; la réaction devenait ininterprétable.

. Nous avons, dans un premier temps, procédé à une étude systématique de la valeur de la réaction, appréciée par le témoin virus, en fonction du temps de conservation des hématies (Tableau VIII).

Il est apparu que les hématies conservées de 8 à 22 jours donnent une réaction interprétable dans la plupart des cas (22 sur 25 essais).

. Nous avons voulu également contrôler la sensibilité du test en fonction de la durée de conservation des hématies, en faisant une série de réactions pour lesquelles nous avons utilisé toujours les mêmes sérums (sérum positif connu et sérum négatif)

TABLEAU VIII

VALEUR DE LA REACTION
EN FONCTION DE LA DUREE DE CONSERVATION DES HEMATIES A + 4°

Durée de conservation en jours	Nombre total d'essais	Valeur de la réaction	
		Interprétable : TV non agglutinés	Ininterprétable : TV agglutinés
< 8	7	3	4
8 - 22	25	22	3
> 22	1	1	0

TV : témoin virus.

et les mêmes antigènes, mais des hématies du commerce provenant de lots différents (Tableau IX).

Nous remarquons le même phénomène, à savoir que les hématies de 8 à 22 jours donnent une bonne réaction avec des témoins virus non agglutinés - le titre du sérum positif ne variant que d'une dilution, au maximum, quel que soit le lot.

Pour chaque lot, nous pouvons grouper les résultats (Tableau X).

Il fut intéressant de constater que nous n'avions pas observé de variations du titre du sérum positif dans les réactions effectuées avec des hématies dont l'âge variait de 13 à 18 jours.

. En outre, les essais effectués avec les hématies conservées dans la solution d'Alsever nous conduisent à une lecture de la réaction plus difficile qu'avec les hématies du commerce, car elles sont plus fragiles et on observe même une hémolyse partielle lors des lavages successifs.

Nous avons donc retenu les hématies de mouton du commerce conservées de 8 à 22 jours qui nous ont toujours donné des résultats satisfaisants en nous limitant surtout à la tranche 13 - 17 jours (Tableau XI).

TABLEAU IX

ESSAIS DE CONSERVATION DE DIFFERENTS LOTS D'HEMATIES DU COMMERCE

CONSERVATION DES HEMATIES A + 4° Nombre de jours	N° DU LOT	TEMOIN VIRUS (1)	QUALITE DE LA REACTION (2)
4	03203	+	-
5	05203	+	-
6	03203	±	-
7	03203	±	-
7	01204	±	-
8	01204	-	+
10	05203	-	+
11	01204	-	+
13	04203	-	++
13	01204	-	++
14	02203	-	++
14	05203	-	++
14	03204	-	++
15	03204	-	++
17	05203	-	++
18	04203	-	++
22	04203	-	+

(1) L'agglutination des témoins virus est notée de + à - :

- + : agglutination franchement positive
- ± : agglutination faible
- : pas d'agglutination

(2) On affecte conventionnellement la réaction des signes :

- ++ : quand le sérum engagé dans la réaction retrouve son titre
- +
- : quand le titre obtenu diffère de plusieurs dilutions.

TABLEAU X

VALEUR DE LA REACTION EN FONCTION DE LA DUREE
DE CONSERVATION DE 5 LOTS

N° DU LOT	CONSERVATION DES HEMATIES A + 4° Nombre de jours	TEMOIN VIRUS (1)	QUALITE DE LA REACTION (2)
03203	4	+	-
	6	±	-
	7	±	-
04203	13	-	++
	18	-	++
	22	-	+
05203	5	+	-
	10	-	+
	14	-	++
	17	-	++
01204	7	±	-
	8	-	+
	11	-	+
	13	-	++
03204	14	-	++
	15	-	++

(1) L'agglutination des témoins virus est notée de + à - :

+ : agglutination franchement positive

± : agglutination faible

- : pas d'agglutination

(2) On affecte conventionnellement la réaction des signes :

++ : quand le sérum engagé dans la réaction retrouve son titre

+ : quand le titre obtenu diffère d'une dilution (en + ou en -)

- : quand le titre obtenu diffère de plusieurs dilutions.

VALEUR DE LA REACTION UTILISANT DES HEMATIES DU COMMERCE CONSERVEES PENDANT 11 à 18 JOURS

TABLEAU XI

DUREE DE CONSERVATION DES HEMATIES EN JOURS							
	11	12	13	14	15	17	18
Qualité de la réaction :							
-	2	2	0	0	0	0	1
+	4	10	4	4	1	3	3
++	0	2	7	7	9	1	0
Nombre total d'essais	6	14	11	11	10	4	4

Pour toutes ces réactions, le témoin virus était non agglutiné.

On affecte conventionnellement la réaction des signes :

- ++ : quand le sérum engagé dans la réaction retrouve son titre
- + : quand le titre obtenu diffère d'une dilution (en + ou en -)
- : quand le titre obtenu diffère de plusieurs dilutions.

b) Concentration de l'acide tannique

Nous avons effectué plusieurs essais avec différentes concentrations d'acide tannique : 1/20 000, 1/50 000, 1/80 000.

Seule, la dilution de 1/50 000 nous a donné des résultats satisfaisants : ces essais ont été effectués avec les sérums expérimentaux de lapins et des sérums humains de titre connu, dits "sérums de travail".

c) Temps de contact hématies-acide tannique

Nous avons essayé différents temps de contact hématies-acide tannique au bain-marie à 37° : 5 minutes, 10 minutes, 15 minutes et 20 minutes.

Il est apparu qu'avec les hématies tannées incubées 10 minutes à 37°, les résultats étaient meilleurs : l'agglutination étant plus nette.

d) Conservation des antigènes

D'après SCOTT (1961), l'antigène de l'herpès simplex pouvait se conserver jusqu'à 8 mois à + 4°.

. Nous avons fait en parallèle des essais avec l'antigène conservé à + 4° ; - 20° et lyophilisé.

Nous constatons que les antigènes se conservent au moins un mois quel que soit le mode de conservation. Nous n'avons pu poursuivre nos réactions, notre antigène étant épuisé.

. Pour contrôler la stabilité de l'antigène lyophilisé, nous avons effectué une série de réactions avec un antigène de référence (ROIZMAN) différent de celui utilisé couramment au cours de notre travail.

Cet antigène se conserve pendant au moins 3 mois.

. Nous avons également étudié l'influence de la durée de conservation à - 70°. Les résultats sont encore reproductibles avec des antigènes conservés 14 mois.

e) Temps de contact antigènes-hématies tannées

Nous avons mis à incuber les hématies tannées en présence de l'antigène à la température du laboratoire pendant 5 minutes, 10 minutes, 15 minutes et 20 minutes.

Il est apparu qu'après un contact de 10 minutes à la température du laboratoire, les hématies tannées "sensibilisées" donnaient des résultats satisfaisants quant au titre des sérums dits de travail.

f) Traitement et conservation des sérums

Les sérums sont absorbés avec des :

- hématies de mouton à 50 p. 100
- hématies tannées
- cellules RK13.

. Traitement des sérums avec les hématies à 50 p. 100

Les sérums sont inactivés 30 minutes à 56°, dilués au 1/2 dans le diluant - sérum de lapin et absorbés à + 4°, 1 heure, en ajoutant 2 gouttes de suspension d'hématies de mouton à 50 p. 100. Ce traitement a pour but d'éliminer les agglutinines naturelles anti globules rouges de mouton.

. Traitement des sérums avec les hématies tannées

Les sérums inactivés et dilués sont absorbés à + 4° pendant 30 minutes avec des hématies tannées en mettant 0,1 ml d'hématies tannées pour 1 ml de sérum.

. Traitement des sérums avec les cellules RK 13

Les cellules RK 13 conservées à - 70° (10 millions de cellules pour 5 ml de milieu de croissance additionné de 10 p. 100 de glycérol), sont centrifugées à 3 000 tours/min. pendant 10 minutes. Le surnageant est éliminé et remplacé par 1 ml de la solution PBS, pH = 7,2.

Nous obtenons ainsi, 10 millions de cellules pour 1 ml (les cellules sont vivantes car capables de se multiplier).

Les sérums à traiter sont inactivés à 56° pendant 30 minutes et absorbés à la température du laboratoire une heure avec des cellules RK 13 en mettant 0,1 ml de cellules (10^6 cellules) pour 1 ml de sérum.

Ces traitements sont destinés à éliminer les anticorps dirigés contre les antigènes d'espèce animale, soit "naturels" (anticorps agglutinant les hématies de mouton des sérums humains ou de lapin), soit apparus après immunisation (anticorps dirigés contre le système cellulaire ayant servi de substrat à la multiplication du virus).

. Sérums de lapins avant immunisation . (Tableau XII)

Nos essais ont porté sur des sérums traités par des globules rouges tannés seuls puis par des globules rouges à 50 p. 100 et des globules rouges tannés et enfin, par des cellules RK 13 et des globules rouges tannés.

Sur quatre sérums de lapins non immunisés et absorbés avec les hématies tannées, trois présentent des hémagglutinations positives vis-à-vis des virus herpétiques type 1 et type 2 à des titres variant de 8 à 32.

En faisant le traitement avec les hématies à 50 p. 100, puis avec les hématies tannées, on ne modifie pas cette hémagglutination.

Le traitement par les cellules RK 13 et les hématies tannées fait disparaître complètement l'hémagglutination provoquée par les sérums d'animaux non immunisés

- en présence du virus herpès type 1 : 3 fois sur 3 (sérums n° 99 454, 99 455, 99 458) ;
- en présence du virus herpès type 2 : l'hémagglutination "faussement positive" est éliminée 2 fois sur 3 (sérums n° 99 454, 99 455) et réduite de 32 à 8 pour le sérum n° 99 458.

On remarque que l'hémagglutination passive a toujours un titre plus élevé vis-à-vis du virus herpès type 2 que vis-à-vis du virus herpès type 1.

. Sérums de lapins après immunisation . (Tableau XIII)

L'immunisation est effectuée par une série de 5 à 7 injections selon le type.

- Pour le virus herpès type 1 : 4 injections intramusculaires suivies d'une injection de rappel de $3 \cdot 10^6$ DICT₅₀ chacune.
- Pour le virus herpès type 2 : 4 injections intramusculaires suivies de 3 injections de rappel de $1 \cdot 10^6$ DICT₅₀ chacune.

. Sérums de lapins anti-herpès type 1 : Souche BAIN

Le traitement de ces sérums par les cellules RK 13 et les hématies tannées ne modifie pas le titre des anticorps homologues (anti-virus herpès type 1), mais donne un titre en anticorps hétérologues (anti-virus herpès type 2) plus faible que le traitement par les hématies tannées et ceci, 2 fois sur 4 (sérums n° 44-6 et 44-4) les titres variant de 2 à 3 dilutions.

. Sérums de lapin anti-herpès type 2 : Souche BENFIELD

La même observation a été faite en traitant les sérums de lapins anti-herpès type 2.

Ce traitement améliore donc la spécificité des sérums préparés chez l'animal.

. Sérums humains . (Tableau XIV)

Pour les sérums humains négatifs, on n'a pas pu mettre en évidence, à ce jour, d'hémagglutination passive "faussement positive".

Le traitement des sérums positifs par les cellules RK 13 et les hématies tannées modifie peu le titre des anticorps testés par hémagglutination passive, quel que soit le type de virus.

Au vu de ces résultats, nous avons absorbé les sérums de

lapins avec les cellules RK 13 et les hématies tannées tandis que les sérums humains le sont uniquement avec les hématies tannées.

Afin de pouvoir titrer un nombre plus élevé de sérums dans chaque réaction, nous avons essayé de conserver ces sérums traités.

Nous avons remarqué qu'on pouvait les garder 24 heures à + 4°, sans faire varier leur titre en anticorps.

3 . Réaction proprement dite .

3.1 . Fixation de l'antigène sur les hématies tannées .

On prépare une solution d'acide tannique à 1/50 000 dans du PBS (pH = 7,2) d'une part et une suspension d'hématies de mouton à 3 p. 100 d'autre part. Les hématies sont lavées trois fois puis sont remises en suspension à 3 p. 100 dans du PBS (pH = 7,2).

On mélange un volume de suspension d'hématies et un volume de solution d'acide tannique. Après 10 minutes de contact à 37°, la suspension est centrifugée, lavée deux fois et remise en suspension à 3 p. 100 dans du PBS (pH = 7,2).

On mélange ensuite un volume d'antigène à la dilution choisie dans du PBS (pH = 6,4) et un volume de suspension d'hématies tannées à 3 p. 100 en PBS (pH = 7,2).

On laisse incuber 10 minutes à la température du laboratoire. On centrifuge et on lave deux fois dans le diluant (sérum de lapin dilué à 1/100 dans du PBS, pH = 7,2) puis on prépare une suspension d'hématies à 1 p. 100 dans le même diluant. On obtient, ainsi, les "hématies sensibilisées". Toutes les centrifugations sont faites dans la centrifugeuse MSE 4 L réfrigérée.

- Titrage de l'antigène fixé sur les hématies :

Le titrage de l'antigène a été fait par la méthode dite de "l'échiquier" où chacune des dilutions de l'antigène est mise en présence de chaque dilution des sérums positifs et négatifs connus.

TABEAU XII

EFFETS DES TRAITEMENTS SUR LES TITRES HEMAGGLUTININANTS DES SERUMS DE LAPINS PRELEVES AVANT IMMUNISATION

N° du sérum	Date du prélèvement	Sérum traité par GRT seuls		Sérum traité par GR à 50 p. 100 puis GRT (1)		Sérum traité par cellules RK 13 puis GRT	
		HP ₁	(2) HP ₂	(3) HP ₁	HP ₂	HP ₁	HP ₂
Sérum lapin n° 152 99 454	21.10.1971	32	32	8	32	< 4	< 4
Sérum lapin n° 153 99 455	21.10.1971	8	8	8	16	< 4	< 4
Sérum lapin n° 158 99 458	17.11.1971	16	32	16	32	< 4	8
Sérum lapin n° 159 99 459	17.11.1971	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4

(1) GRT : globules rouges tannées

(2) HP₁ : hémagglutination passive type 1 : souche BAIN

(3) HP₂ : hémagglutination passive type 2 : souche BENFIELD

TABLEAU XIII

EFFETS DES TRAITEMENTS SUR LES TITRES HEMAGGLUTINANTS DES SERUMS DE LAPINS PRELEVES APRES IMMUNISATION

N° du sérum	Nombre de jours après		Sérum traité par GRT		Sérum traité par GR à 50 p. 100 puis GRT		Sérum traité par cellules RK 13 puis GRT	
	Immuni- sation	Rappel	HP ₁	HP ₂	HP ₁	HP ₂	HP ₁	HP ₂
<u>Sérums de lapins anti herpès t₁</u>								
Lapin 152	+ 34		32	32	32	32	32	32
44-3								
44-6	+ 59	(1) + 15	128	64	256	64	128	16
<u>Lapin 153</u>								
44-4	+ 34		32	32	NF	NF	32	4
44-7	+ 59	(1) + 15	512	32	256	32	512	32
<u>Sérums de lapins anti herpès t₂</u>								
Lapin 159	+ 35		16	128	16	128	4	120
44-8								
44-10	8m 5j	(2) + 12	64	2048	32	1024	16	2048
44-11	8m 19j	(3) + 14	64	2048	64	2048	16	2048

* Le chiffre entre parenthèses indique le nombre d'injections de rappel effectuées.

NF : non fait - HP₁ : hémagglutination passive type 1 - HP₂ : hémagglutination passive type 2

Souche BAIN

Souche BENFIELD

TABEAU XIV

EFFETS DES TRAITEMENTS SUR LES TITRES HEMAGGLUTININANTS DES SERUMS HUMAINS

NOM	Date du sérum	Serum traité par GRT		Sérum traité par cellules RK 13 puis GRT	
		HP ₁	HP ₂	HP ₁	HP ₂
BR. J	24. 6.1965	256	512	128	256
BL. G	17. 4.1972	< 4	< 4	< 4	< 4
GR. J	7. 3.1972	16	NF	16	16
HE. M	4. 6.1965	64	64	64	16
IS. C	16. 6.1970	128	128	32	128

HP₁ : hémagglutination passive type 1 : Souche BAIN

HP₂ : hémagglutination passive type 2 : Souche BENFIELD

NF : non fait

Le choix du titre de l'antigène correspond à la plus forte dilution donnant une agglutination en présence de la plus forte dilution du sérum positif.

On vérifiera l'absence d'agglutination pour le sérum négatif.

Suivant les lots, l'antigène a été utilisé dilué à 1/4 ou 1/8.

3.2 . Réaction .

Il s'agit d'une microméthode.

Les sérums à étudier sont dilués selon une progression géométrique de raison 2 dans du diluant PBS (pH = 7,2) additionné de 2 p. 100 de sérum de lapin normal.

Nous répartissons, à l'aide d'un rhéomètre, 0,05 ml de ce diluant de la seconde à la dernière cupule d'une rangée. Les deux premières cupules reçoivent 0,05 ml de sérum dilué à 1/2.

A partir de la deuxième cupule, nous diluons le sérum par passages successifs de 0,05 ml.

Nous ajoutons 0,05 ml de diluant dans toutes les cupules. Puis, nous distribuons 0,05 ml de la suspension d'hématies "sensibilisées" à 1 p. 100 (Tableau XV).

3.3 . Témoins .

- Témoin hématies tannées -

Diluant.....	0,1 ml
Suspension d'hématies tannées à 1 p. 100.....	0,05 ml

Il permet de mettre en évidence une éventuelle agglutination spontanée des hématies ou une altération du diluant.

- Témoin sérum -

Sérum à la 1ère dilution du test.....	0,05 ml
Diluant.....	0,05 ml
Hématies tannées à 1 p. 100.....	0,05 ml

Il ne doit pas agglutiner les hématies tannées sensibilisées.

Il permet de révéler la présence, dans les sérums, d'hétéro-agglutinines.

- Témoin virus -

Diluant.....	0,1 ml
Hématies tannées sensibilisées à 1 p. 100.....	0,05 ml

On ne doit pas observer d'hémagglutination.

- Dans chaque réaction, on engage deux sérums connus, pris comme témoins :

- . 1 sérum négatif ne possédant pas d'anticorps hémagglutinants, contre le virus étudié.
- . 1 sérum positif dont le titre en anticorps hémagglutinants est connu.

3.4 . Lecture et interprétation .

La lecture se fait après 6 à 18 heures de contact à la température du laboratoire. Nous avons l'habitude de lire nos plaques après un contact de 18 heures.

La sédimentation des hématies agglutinées s'apprécie macroscopiquement. Une réaction négative est révélée par la présence d'un culot d'hématies au fond de la cupule. Une réaction très positive montre un tapis d'hématies sur la surface de la cupule.



Hémagglutination



Culot de sédimentation

La réaction n'est interprétable que si tous les témoins sont corrects et si l'on retrouve le titre des sérums témoins (à une dilution près pour le sérum positif).

Le titre du sérum correspond à l'inverse de la dilution qui donne encore une hémagglutination nette.

La technique adoptée, ici, est très fidèle car elle ne donne pas de réactions "faussement positives" et elle est reproductible (tableau XVI).

TABLEAU XVI

REPRODUCTIBILITE DE LA REACTION D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE

Souche		Nombre de réactions	Sérums positifs testés : S+	S+ Titres extrêmes	$\bar{m} + \sigma$	Sérum négatif
NOM	Type					
"BAIN"	1	8	SOH...	1024-512	608 $\pm$ 1	< 2
"Z"	1	5	THA...	1024-256	388 $\pm$ 1	< 2
		6	DUM...	512-128	287 $\pm$ 1	< 2
		4	ISN...	512-128	256 $\pm$ 1	< 2
"BENFIELD"	2	12	SOH...	256- 64	102 $\pm$ 1	< 2

$\bar{m}$: moyenne géométrique

σ : erreur sur la moyenne.

C - APPLICATION DE LA TECHNIQUE D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE A
L'IDENTIFICATION DES SOUCHES DE REFERENCE D'HERPES VIRUS
TYPES 1 et 2 -

Tous les sérums préparés à l'aide des différentes souches de référence d'herpès virus ont été engagés dans des réactions d'hémagglutination passive en présence des souches types 1 et 2 homologues et hétérologues, selon le protocole indiqué dans la "technique personnelle".

Compte tenu des résultats obtenus dans le précédent travail, tous les sérums ont été systématiquement traités avec les cellules RK 13 puis les hématies tannées, et ont été titrés vis-à-vis de leur souche homologue et des souches hétérologues.

Dans le but d'augmenter la spécificité de type de cette réaction, nous avons poursuivi ce travail en traitant les sérums de lapins avec les cellules RK 13 et les hématies tannées sensibilisées par le type homologue ou le type hétérologue pour essayer d'éliminer les anticorps hétérospécifiques.

Traitement des sérums avec les globules rouges tannées sensibilisées :

Les sérums inactivés et traités avec les cellules RK 13 sont absorbés avec des hématies tannées sensibilisées en mettant 0,1 ml d'hématies tannées sensibilisées à 30 p. 100 pour 1 ml de sérum dilué à 1/4.

Nous avons effectué en parallèle deux temps de contact :
sérum + hématies tannées sensibilisées,

soit 1 heure à 37°

soit 3 heures à 37° puis une nuit à + 4°

Les résultats sont réunis dans les tableaux XVII, XVIII, XIX.

- Sérums de lapins anti herpès type 1 -

Les hématies tannées sensibilisées par la souche homologue type 1 ou par une autre souche type 1 absorbent les anticorps des sérums anti herpès virus type 1.

L'absorption de ces sérums par les hématies tannées sensibilisées par une souche herpès type 2 est sans effet sur les titres des anticorps anti herpès virus type 1.

- Sérums de lapins anti herpès type 2 -

Le titre en anticorps des sérums de lapins traités avec les hématies tannées sensibilisées par la souche homologue type 2 diminue 2 à 4 fois.

. Sérum traité avec les hématies tannées sensibilisées par la souche RATCLIFFE type 2 .

Le titre des anticorps diminue vis-à-vis des souches RATCLIFFE types 1 et 2 mais reste stationnaire pour les autres souches herpès type 1, ainsi que pour les souches type 2 : ROIZMAN et RATCLIFFE.

. Sérum traité avec les hématies tannées sensibilisées avec la souche BENFIELD Type 2 .

Le titre des anticorps diminue vis-à-vis de la souche BENFIELD type 2, très peu vis-à-vis des souches RATCLIFFE type 1 et ROIZMAN type 2 et pas du tout vis-à-vis des autres souches type 1 et de la souche RATCLIFFE type 2.

. Sérum traité avec les hématies tannées sensibilisées avec la souche ROIZMAN Type 2 .

Les titres en anticorps diminuent vis-à-vis des souches types 1 et 2, sauf pour la souche Z type 1 et RATCLIFFE type 1.

Le traitement des sérums anti type 2 par une souche herpès type 1 fait baisser les titres en anticorps anti type 1 et type 2, sauf

pour la souche Z type 1.

Nous n'avons pas noté de variation du titre des anticorps en fonction du temps de contact : sérum plus hématies tannées sensibilisées.

Nous avons retenu, pour la suite de notre travail, l'absorption des sérums avec hématies tannées sensibilisées pendant une heure à 37°.

TABEAU XVII

**EFFETS DES TRAITEMENTS SUR LES TITRES HEMAGGLUTINANTS
DES SERUMS DE LAPINS PRELEVES APRES IMMUNISATION**

Sérums de lapins anti herpès type 1	NOMBRE DE JOURS APRES		Virus herpès type 1		
	Immunisation	Rappel	Souche RATCLIFFE HP ₁	Souche Z HP ₁	Souche BAIN HP ₁
=====					
• <u>Souche BAIN</u>					
Lapin 152					
44-3 T	+ 34		32	16	32
44-3 T t _{1a}			4	< 4	4
44-3 T t _{1b}			8	< 8	8
44-3 T t _{1a} ⁺			< 8	< 8	< 8
44-3 T t _{1b}			< 8	< 8	< 8
44-3 T t _{2a} [⊙]			16	16	16
44-3 T t _{2b}			16	16	16
44-6 T	+ 49	(1)+ 15	64	64	32
44-6 T t _{1a}			8	< 4	8
44-6 T t _{1b}			8	< 4	8
44-6 T t _{1a} ⁺			< 8	< 8	< 8
44-6 T t _{1b}			< 8	< 8	< 8
44-6 T t _{2a} [⊙]			16	32	16
44-6 T t _{2b}			32	32	16
Lapin 153					
44-4 T	+ 34		32	64	32
44-4 T t _{1a}			8	8	8
44-4 T t _{1b}			8	8	8
44-4 T t _{1a} ⁺			8	8	< 8
44-4 T t _{1b}			8	< 8	< 8
44-4 T t _{2a} [⊙]			16	16	16
44-4 T t _{2b}			16	16	16

T = sérum traité avec cellules RK 13 puis hématies tannées

T t₁ = sérum traité avec cellules RK 13 puis hématies tannées sensibilisées avec le virus herpès type 1 (Souche BAIN)

T t₁⁺ = Souche RATCLIFFE type 1

T t₂[⊙] = Souche RATCLIFFE type 2

a = contact 1^h à 37°

b = contact 3^h à 37° + 1 nuit + 4°

HP₁ = hémagglutination passive type 1

TABLEAU XVIII
EFFETS DES TRAITEMENTS SUR LES TITRES HEMAGGLUTINANTS DES SERUMS DE LAPINS PRELEVES APRES IMMUNISATION

Sérums de lapins anti herpès type 2	NOMBRE DE JOURS APRES		Virus herpès type 1					Virus herpès type 2			
	Immisation	Rappel	Souche RATCLIFFE HP ₁	Souche ROIZMAN HP ₁	Souche Z HP ₁	Souche BAIN HP ₁	Souche RATCLIFFE HP ₂	Souche ROIZMAN HP ₂	Souche BENFIELD HP ₂		
• Souche RATCLIFFE											
Lapin 3											
3-2 T	+ 49	(1)+ 15	128	64	32	32	128	64	16		
3-2 T t _{2a}			32	64	32	32	64	64	16		
3-2 T t _{2b}			32	64	32	16	32	64	NF		
3-2 T t _{1a}			32	NF	32	32	64	NF	NF		
3-2 T t _{1b}			NF	NF	32	16	32	NF	NF		
• Souche BENFIELD											
Lapin 159											
44-10 T	+ 8m 5j	(2)+ 12	1024	256	256	64	1024	1024	2048		
44-10 T t _{2a}			512	256	128	64	1024	128	256		
44-10 T t _{2b}			256	NF	128	64	1024	128	256		
44-10 T t _{1a}			128	NF	64	64	256	NF	64		
44-10 T t _{1b}			128	NF	64	64	256	NF	NF		

HP₁ = hémagglutination passive type 1
 NF = non fait
 T = sérum traité avec cellules RK 13 puis hématies tannées
 T t₂ = sérum traité avec cellules RK 13 puis hématies tannées sensibilisées avec la souche homologue
 T t₁ = sérum traité avec cellules RK 13 puis hématies tannées sensibilisées avec la souche RATCLIFFE type 1

HP₂ = hémagglutination passive type 2
 a = contact 1^h à 37°
 b = contact 3^h à 37° + 1 nuit + 4°

TABEAU XIX

EFFETS DES TRAITEMENTS SUR LES TITRES HEMAGGLUTININANTS DES SERUMS DE LAPINS PRELEVES APRES IMMUNISATION

Sérums de lapins anti herpès type 2	NOMBRE DE JOURS APRES		Virus herpès type 1					Virus herpès type 2			
	Immunisation	Rappel	Souche RATCLIFFE HP ₁	Souche ROIZMAN HP ₁	Souche Z HP ₁	Souche BAIN HP ₁	Souche RATCLIFFE HP ₂	Souche ROIZMAN HP ₂	Souche BENFIELD HP ₂		
• Souche ROIZMAN											
Lapin 7											
7-2 T	+ 49	(1)+ 15	512	256	256	64	512	512	16		
7-2 T t _{2a}			256	64	256	32	256	64	16		
7-2 T t _{2b}			NF	64	256	32	NF	64	NF		
7-2 T t _{1a}			128	64	256	32	256	64	NF		
7-2 T t _{1b}			NF	64	256	NF	NF	64	NF		
Lapin 8											
8-1 T	+ 34		1024	256	512	128	32	64	4		
8-1 T t _{2a}			1024	64	512	32	8	8	< 4		
8-1 T t _{2b}			NF	64	512	32	8	8	< 4		
8-1 T t _{1a}			256	64	256	32	< 4	8	< 4		
8-1 T t _{1b}			NF	64	256	NF	< 4	8	< 4		
8-3 T	+ 3m 26j		512	256	512	64	64	64	8		
8-3 T t _{2a}			512	64	512	32	32	8	< 8		
8-3 T t _{2b}			NF	64	512	32	32	8	< 8		
8-3 T t _{1a}			256	64	256	32	32	8	NF		
8-3 T t _{1b}			NF	64	256	NF	32	8	NF		

HP₁ = hémagglutination passive type 1

NF = non fait

T = sérum traité avec cellules RK 13 puis hématies tannées

T t₂ = sérum traité avec cellules RK 13 puis hématies tannées

a = contact 1h à 37°

b = contact 3h à 37°+ 1 nuit à + 4°

HP₁ = hémagglutination passive type 2

T t₂ = sérum traité avec cellules RK 13 puis hématies tannées sensibilisées avec la souche ROIZMAN type 1

II . REACTION DE NEUTRALISATION .

1 . Principe .

La réaction comporte la recherche de la neutralisation d'un virus herpès, préalablement titré, par les sérums de lapins anti herpès types 1 et 2.

2 . Technique utilisée .

Nous utilisons une microméthode en plaques : PAULS et DOWDLE (1967).

Les plaques sont creusées de cupules en U (Falcon microtest tissue culture plate).

Dans un premier temps, le milieu de croissance (milieu 199 + 10 p. 100 de sérum de veau inactivé) est réparti dans les plaques à raison de 0,05 ml par cupule.

Les sérums non décomplémentés sont dilués dans ce milieu de croissance selon une progression géométrique de raison 2. Compte tenu de la quantité de sérums dont nous disposions, la première dilution a été effectuée à 1/4 ou 1/8 et la dernière dilution à 1/4096.

La suspension virale, contenant 100 DICT 50 est ajoutée aux dilutions des sérums sous un volume de 0,05 ml. Après un contact virus + sérum d'une heure à la température du laboratoire, les plaques étant placées dans des caissons étanches en atmosphère enrichie de CO₂, la suspension cellulaire est répartie dans les cupules sous volume de 0,05 ml (cellules RK 13 en suspension à 300 000 cellules / ml).

Les microplaques sont ensuite déposées à 37° en atmosphère enrichie en CO₂.

La lecture de la réaction est faite au 3ème jour et le titre d'anticorps neutralisant est exprimé par l'inverse de la dilution neu-

tralisant 50 p. 100 de l'effet cytopathique provoqué par 100 DICT 50 de virus.

Tous les sérums préparés à l'aide des différentes souches d'herpès ont été engagés dans des réactions de neutralisation vis-à-vis des souches types 1 et 2 homologues et hétérologues.

III . FRACTIONNEMENT DES SERUMS .

Le sérum est fractionné par ultra centrifugation en gradient de densité de saccharose.

A - PREPARATION DU GRADIENT -

1 - Les solutions de saccharose -

Nous avons utilisé un gradient linéaire allant de 12 à 35 p. 100 de saccharose.

On prépare deux solutions, l'une à 12 p. 100 (poids pour volume), l'autre à 35 p. 100 en tampon phosphate pH = 7,2. Ces solutions sont conservées à + 4°.

Solution tampon (P.B.S. A)

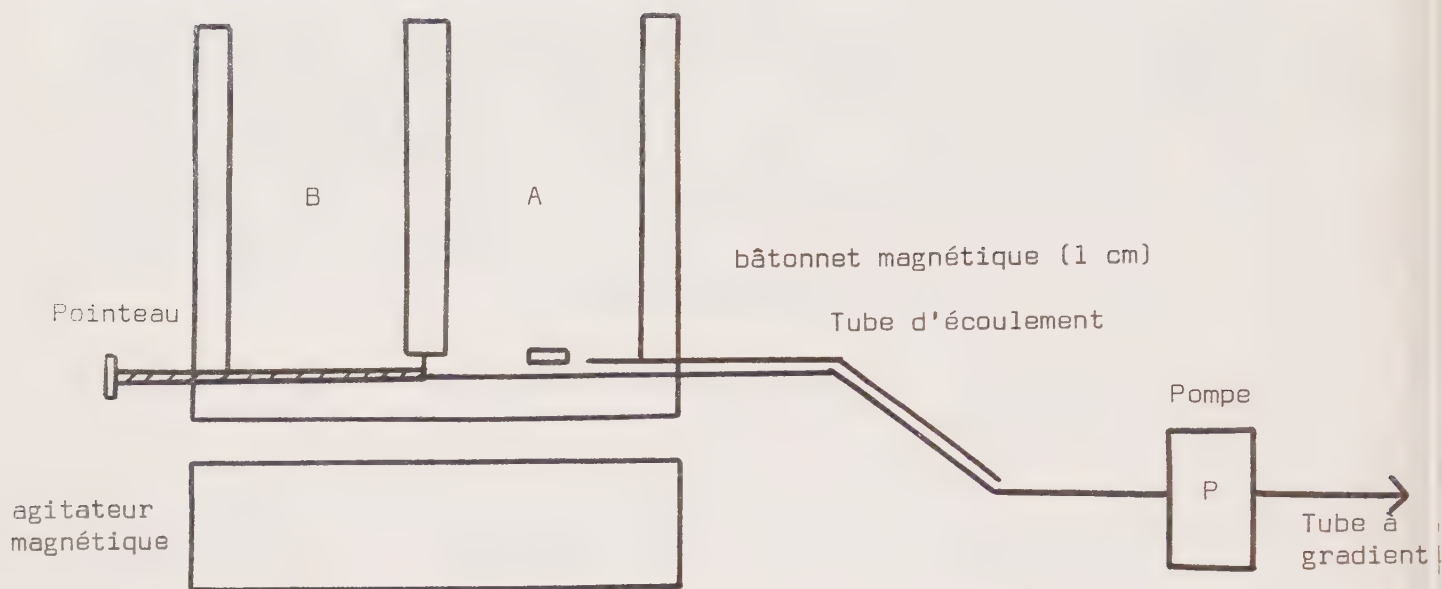
Na cl.....	10 g
K cl.....	0,25 g
Na ₂ HPO ₄ , 2H ₂ O.....	1,43 g
K H ₂ PO ₄	0,25 g
Eau distillée q.s.p.....	1000 ml

2 - L'appareil à gradient -

L'appareil utilisé est semblable à celui décrit par BRITTEN et ROBERTS (1960) (fig. 1).

Il est formé d'un bloc de plexiglas (95 X 71 X 27 mm), creusé de deux chambres cylindriques identiques (A et B) de 16 mm de diamètre et 85 mm de hauteur. Ces deux cavités communiquent entre elles par un fin canalicule (1 mm de diamètre environ) que l'on peut fermer à l'aide d'un pointeau vissé. L'écoulement s'effectue par un capillaire métallique situé à la base de la chambre A et relié, à son autre extrémité, à une pompe (Varioperpex 12 000 LKB), afin d'assurer un débit constant (8 ml / h) dans le tube collecteur.

Fig. 1 : Appareil à gradient



B - DEPOT DE L'ECHANTILLON -

Sur 5 ml de gradient, on dépose, à l'aide d'une pipette fine, en surface et en évitant tout mélange, 0,5 ml de sérum traité et dilué à 1/2 dans du P.B.S. A.

On peut, lorsque l'on ne dispose que d'une très faible quantité de sérum, utiliser une dilution de 1/4.

Le dépôt est réalisé juste avant la centrifugation.

C - CENTRIFUGATION -

On centrifuge 17^h à 35 000 r p m sur une centrifugeuse SPINCO L₃-40 avec un rotor SW 50,1

D - COLLECTION DES FRACTIONS -

Afin de ne pas perturber le gradient, on sort les tubes du

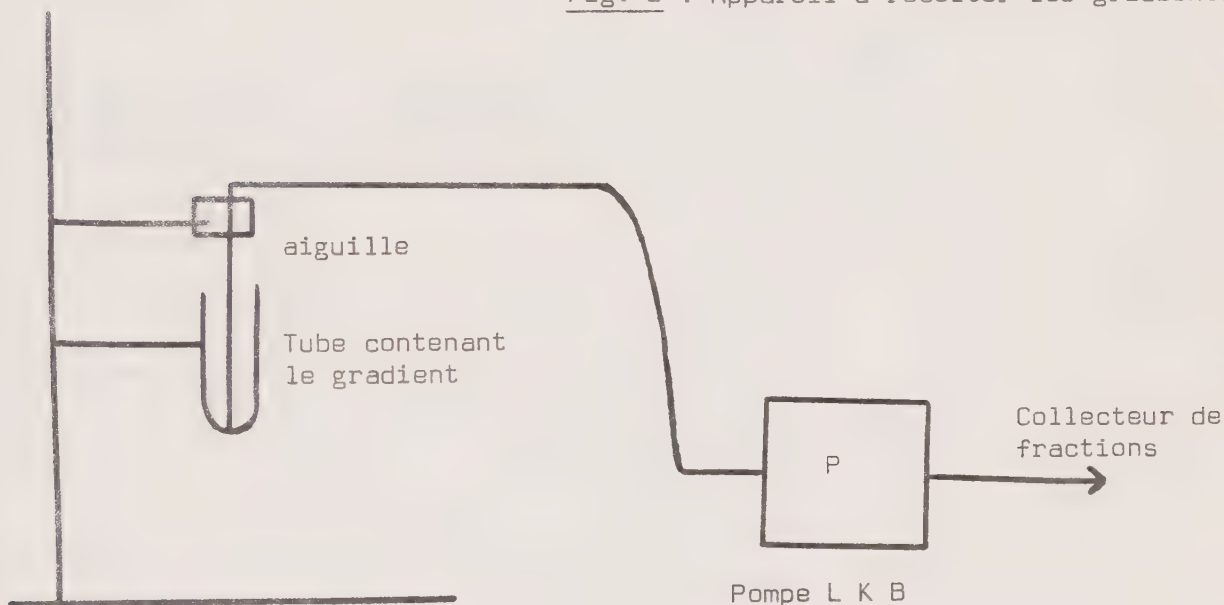
rotor avec le plus grand soin.

Dans le cas où ils ne sont pas récoltés dès leur sortie de la centrifugeuse, on maintient les tubes à + 4°.

Le tube est fixé sur un support, une aiguille plonge au fond du tube de gradient. On branche la pompe LKB et on récolte les fractions toutes les 22 secondes.

Pour chaque gradient de 5 ml, nous obtenons 9 fractions de 0,5 ml environ : Figure 2.

Fig. 2 : Appareil à récolter les gradients



E - MISE EN EVIDENCE DES IMMUNOGLOBULINES DANS LES FRACTIONS PAR
IMMUNO DIFFUSION RADIALE - (1)

La mise en évidence des immunoglobulines dans les fractions de sérums a été effectuée selon la méthode de MANCINI (1965).

1 - Elimination du saccharose dans les fractions -

Dans un premier temps, nous devons éliminer le saccharose, pré-

(1) Nous remercions Madame VALANCOGNE d'avoir bien voulu nous aider dans la réalisation de ce travail.

sent dans les fractions des sérums de lapins, qui pouvait gêner la diffusion des immunoglobulines au sein de l'agarose. Ceci a été effectué par dialyse sous agitation douce pendant une nuit contre un tampon PBS pH = 7,2.

Les fractions sont alors récupérées puis hyophilisées. Elles sont ensuite reprises dans un volume d'eau distillée de telle sorte qu'elles soient concentrées deux fois par rapport au volume initial.

2 - Technique d'immunodiffusion radiale -

Nous utilisons :

- Agarose A₄₅ à 1 p. 100
- Sérum de chèvre anti-immunoglobulines G de lapin (BEHRING 2082 AC)
- Sérum d'âne anti-immunoglobulines totales de lapin (BEHRING 1947 Q, R 4384).

L'agarose est régénérée au bain-marie à 45°.

Le sérum de chèvre (ou le sérum d'âne) dilué à 1/2 est incorporé dans l'agarose à raison de 1 ml de sérum pour 10 ml d'agarose soit à une dilution finale de 1/20.

L'horizontalité des lames, placées sur un poste lame type GELMAN, est contrôlée au moyen d'un niveau à bulle.

Le mélange agarose + sérum est coulé sur ces lames de façon à avoir une couche uniforme de 1,5 mm d'épaisseur. Les puits de 3,5 mm de diamètre sont creusés à l'emporte pièce et on y dépose 5 ml de chaque fraction.

Les lames sont placées sur un support type GELMAN ; la migration s'effectue, en atmosphère humide, à la température du laboratoire pendant 48^h.

La lecture se fait par la mesure du carré du diamètre des anneaux de précipitation formés dans l'agarose.

Ceci nous a permis d'avoir un ordre de grandeur, et non un titrage précis, de la quantité d'immunoglobulines dans les fractions où se répartissent les immunoglobulines, par rapport à leur activité biologique.

RESULTS

I . ETUDE DE LA REPONSE ANTICORPS A DIFFERENTS VIRUS ET EN FONCTION DE L'ANIMAL .

Nous avons essayé de produire des sérums aussi spécifiques que possible vis-à-vis des différents virus en utilisant deux voies d'inoculation : la voie intramusculaire et la voie intraveineuse.

Tous les sérums de lapin ont été engagés dans les réactions d'héماغglutination passive et de neutralisation et ont donné les résultats globaux suivants :

A - IMMUNISATION PAR VOIE INTRAMUSCULAIRE -

1 . Détection des anticorps héماغglutinants .

Les lapins inoculés avec 1 ml de virus contenant $10^{6,08}$ à $10^{6,8}$ doses infectantes 50 p. 100 (DICT 50) n'ont pas produit d'anticorps.

Les virus ayant servi à l'immunisation de ces lapins ont été préparés à partir des souches BENFIELD type 2 : DICT 50 = $10^{6,8}$, RATCLIFFE type 1 : DICT 50 = $10^{6,67}$ et Z de GAJDUSEK type 1 : DICT 50 = $10^{6,08}$ dans 1 ml. Quelle qu'ait été la souche virale utilisée, il faut au minimum 5 ml de suspension virale titrant $10^{5,5}$ à $10^{7,5}$ DICT 50 à 3 jours pour obtenir une réponse immunologique.

En effet, les titres infectieux de ces virus dans 5 ml sont respectivement :

Souche RATCLIFFE type 2	=	$10^{5,83}$
Souche ROIZMAN Type 2	=	$10^{5,5}$
Souche BENFIELD Type 2	=	$10^{7,5}$
Souche ROIZMAN Type 1	=	$10^{5,5}$
Souche Z de GAJDUSEK Type 1	=	$10^{6,78}$
Souche BAIN Type 1	=	$10^{6,5}$

Il existe une variation de la réponse des lapins aux diffé-

rents virus en fonction de la quantité de suspension virale inoculée.

2 . Détection des anticorps neutralisants .

Le lapin n° 10, inoculé avec 1 ml de suspension antigénique (Souche Z de GAJDOUSEK) contenant $10^{6,08}$ DICT 50, a produit des anticorps.

Pour tous les autres lapins, et quelle que soit la souche virale utilisée, il faut au minimum 5 ml de virus titrant $10^{5,5}$ à $10^{7,5}$ DICT 50 à 3 jours pour obtenir une réponse immunologique.

B - IMMUNISATION PAR VOIE INTRA VEINEUSE -

Tous les sérums provenant des lapins immunisés par voie intraveineuse ont été engagés dans les réactions d'héماغglutination passive et de neutralisation.

1 . Détection des anticorps héماغglutinants .

Le lapin n° 23 inoculé avec 1 ml de virus (Souche BENFIELD Type 2) contenant $10^{6,8}$ DICT 50 a produit des anticorps vis-à-vis de tous les virus herpès types 1 et 2.

Le lapin n° 24 inoculé avec 5 ml de virus (Souche ROIZMAN Type 2) contenant $10^{5,5}$ DICT 50 a répondu par la production d'anticorps aux différents virus herpès type 1 seulement.

Les lapins n° 22 et n° 26 respectivement immunisés avec 5 ml de la souche RATCLIFFE type 2 : DICT 50 : $10^{5,83}$ et 1 ml de la souche RATCLIFFE type 1 : DICT 50 : $10^{6,67}$ n'ont pas produit d'anticorps.

Nous constatons que la quantité de suspension antigénique n'intervient pas seule dans la réponse immunologique des lapins inoculés par voie intraveineuse.

2 . Détection des anticorps neutralisants .

Les lapins immunisés avec 1 ml de suspension virale titrant

$10^{6,08}$ à $10^{6,8}$ DICT 50 à 3 jours n'ont pas répondu.

Seul le lapin n° 24, inoculé avec 5 ml de virus (Souche ROIZMAN type 2) contenant $10^{5,5}$ DICT 50, a produit des anticorps vis-à-vis des virus herpès type 1 (titre plus faible pour les souches Z de GAJDUSEK et BAIN).

Le lapin n° 22, immunisé avec 5 ml de virus (Souche RATCLIFFE type 2) contenant $10^{5,83}$ DICT 50, a produit des anticorps à titre très faible : 8 vis-à-vis des virus herpès types 1 et 2.

II . APPLICATION DE LA REACTION D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE A L'IDENTIFICATION DES SOUCHES DE REFERENCE PAR LES SERUMS DE LAPINS .

En vue d'apprécier la spécificité (type 1 - type 2) des sérums de lapins, les différents antigènes que nous avons préparés à partir des souches de référence ont été titrés vis-à-vis des sérums anti-herpès types 1 et 2 et ont donné les résultats résumés dans les tableaux XX à XXII.

Nous avons testé les sérums prélevés à différents temps d'immunisation pour essayer de suivre l'évolution du titre des anticorps et leur spécificité.

A - SERUMS OBTENUS PAR IMMUNISATION PAR VOIE INTRAMUSCULAIRE -

1 . Sérums anti herpès type 2 .

Nous n'avons pas observé d'activité hémagglutinante non spécifique avec les sérums de lapins prélevés avant immunisation.

a - Souche RATCLIFFE type 2 -

Trois lapins ont été immunisés avec cette souche et ont produit des anticorps homologues à des titres plus ou moins élevés. Nous observons donc une variation des réponses en fonction de l'animal.

Le lapin n° 1 a réagi faiblement vis-à-vis de la souche homologue : titre 32 mais aussi vis-à-vis des autres virus herpès type 2 et des virus herpès type 1 (Souches RATCLIFFE et ROIZMAN).

La lapin n° 2 a le mieux réagi : titre en anticorps anti type 2 : 2048. Mais nous observons une réponse hétérospécifique élevée vis-à-vis des virus herpès type 1 (Souche RATCLIFFE et ROIZMAN).

Le lapin n° 3 a fabriqué des anticorps homologues au titre de 64 et des anticorps vis-à-vis de tous les autres virus herpès types 1 et 2 à des titres voisins.

Les lapins immunisés avec la souche RATCLIFFE type 2 produisent des anticorps homologues mais aussi des anticorps hétérospécifiques vis-à-vis des virus herpès type 1.

b - Souche ROIZMAN type 2 -

Le lapin n° 9 est mort.

Les lapins n° 7 et n° 8 ont réagi de façon identique en donnant des anticorps homologues comme pour la souche RATCLIFFE Type 2. Nous observons la production d'anticorps hétérospécifiques vis-à-vis de tous les virus herpès type 1.

c - Souche BENFIELD type 2 -

Le lapin n° 158 est mort.

Le lapin n° 6 a donné des anticorps homologues à faible titre (16) ainsi que des anticorps vis-à-vis des autres virus herpès types 1 et 2.

Le lapin n° 159, dont l'immunisation a été faite de façon différente lors de notre précédent travail, a réagi, après un 2ème rappel, par la production d'anticorps homologues à des titres élevés (2048) et d'anticorps vis-à-vis de tous les autres virus herpès types 1 et 2.

L'ensemble de ces résultats nous a permis de constater que :

- l'hyperimmunisation n'augmente pas le degré des réponses hétérospécifiques (Lapin n° 159)
- la réponse immunologique des lapins varie dans sa spécificité et sa sensibilité selon l'animal utilisé (souche RATCLIFFE Type 2)
- le virus RATCLIFFE type 2 est le plus immunogène (lapin n° 2)
- le virus BENFIELD type 2 est le moins réactogène sauf pour le lapin n° 159 hyperimmunisé.

TABLEAU XX

DETECTION DES ANTICORPS HEMAGGLUTINANTS ANTI HERPES TYPES 1 et 2
CHEZ LES LAPINS IMMUNISES AVEC LES SOUCHES DE REFERENCE HERPES TYPE 2

Immunisation par voie intramusculaire

	Sérums de lapins anti herpès type 2	NOMBRE DE JOURS APRES		Virus herpès type 1				Virus herpès type 2		
		Immunisation	Rappel	Souche RATCLIFFE HP ₁	Souche ROIZMAN HP ₁	Souche Z HP ₁	Souche BAIN HP ₁	Souche RATCLIFFE HP ₂	Souche ROIZMAN HP ₂	Souche BENFIELD HP ₂
Souche RATCLIFFE	Sérums expérimentaux									
	Lapin 1 1 (A.I)	0		< 4	< 4	4	< 4	< 4	< 4	< 4
	1-1	+ 34		< 4	< 8	4	< 4	< 4	< 4	< 4
	1-2	+ 49	(1)+ 15	32	8	4	< 4	32	64	32
Souche ROIZMAN	Lapin 2 2 (A.I)	0		< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
	2-1	+ 34		32	16	4	8	32	64	16
	2-2	+ 49	(1)+ 15	1024	512	< 4	8	2048	4096	1024
	2-3	+ 3m 26j		128	128	< 4	< 4	128	256	64
Souche BENFIELD	Lapin 3 3 (A.I)	0		< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
	3-1	+ 34		32	16	16	8	16	32	16
	3-2	+ 49	(1)+ 15	128	64	32	32	128	64	16
	3-3	+ 3m 26j		64	16	16	16	64	32	16
Souche BENFIELD	Lapin 7 7 (A.I)	0		< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
	7-1	+ 34		256	64	128	32	16	64	< 4
	7-2	+ 49	(1)+ 15	512	256	256	64	512	512	16
	7-3	+ 3m 26j		128	256	128	32	128	128	< 4
Souche BENFIELD	Lapin 8 8 (A.I)	0		< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
	8-1	+ 34		1024	256	512	128	32	64	< 4
	8-2	+ 49	(1)+ 15	1024	512	1024	128	128	128	< 4
	8-3	+ 3m 26j		512	256	512	64	64	64	< 4
Souche BENFIELD	Lapin 6 6 (A.I)	0		< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
	6-1	+ 34		8	< 4	4	< 4	< 4	4	< 4
	6-2	+ 49	(1)+ 15	32	16	32	16	4	32	16
	6-3	+ 3m 26j		8	16	4	16	4	16	8
Souche BENFIELD	Lapin 159 44-5	+ 21		16	16	< 8	< 4	16	32	< 8
	44-8	+ 35		256	64	16	8	64	256	8
	44-10	+ 8m 5j	(2)+ 12	1024	256	256	64	1024	1024	2048
	44-11	+ 8m 39j	(3)+ 14	1024	1024	256	64	2048	2048	2048
Sérum de référence		Date du sérum de référence								
Sérum de lapin anti virus herpès type 2 de NAHMIAS		8. 4.1971		256	64	64	16	128	512	64

HP₁ = hémagglutination passive type 1

HP₂ = hémagglutination passive type 2

A.I = avant immunisation

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'injection de rappel.

2 . Sérum de référence .

Le sérum de lapin anti herpès type 2 de NAHMIAS réagit vis-à-vis de toutes les souches herpès types 1 et 2.

Le meilleur titre en anticorps est obtenu avec la souche ROIZMAN type 2.

3 . Sérums anti herpès type 1 .

Comme pour les virus herpès type 2, nous n'avons pas observé d'activité hémagglutinante non spécifique avec les sérums de lapins prélevés avant immunisation sauf le lapin n° 12.

a - Souche RATCLIFFE type 1 -

Lapin n° 15 : les titres en anticorps anti type 1 sont élevés (1024). Les sérums sont très spécifiques puisque nous n'observons pas d'anticorps vis-à-vis des virus herpès type 2.

Présence d'anticorps anti type 1 vis-à-vis des autres souches type 1 mais à des titres plus faibles pour la souche BAIN.

b - Souche ROIZMAN type 1 -

Le lapin n° 16 est mort.

Les deux autres lapins : n° 17 et n° 18 ont donné des anticorps homologues à des titres moyens (32) et ont réagi vis-à-vis des autres virus herpès type 1 mais à des titres plus faibles pour la souche BAIN.

c - Souche Z de GAJDUSEK type 1 -

Lapin n° 12 : les titres homologues sont moyens (64).
Présence d'anticorps vis-à-vis des autres virus herpès type 1.
Comme pour les autres souches type 1, la souche BAIN est la moins réactogène.

d - Souche BAIN -

Présence d'anticorps homologues et d'anticorps vis-à-vis des

TABLEAU XXI
DETECTION DES ANTICORPS HEMAGGLUTININANTS ANTI HERPES TYPES 1 et 2
CHEZ LES LAPINS IMMUNISES AVEC LES SOUCHES DE REFERENCE HERPES TYPE 1

Immunsisation par voie intramusculaire									
Sérums de lapins anti herpes type 1	NOMBRE DE JOURS APRES		Virus herpes type 1				Virus herpes type 2		
	Immunsisation	Rappel	Souche RATCLIFFE HP ₁	Souche ROIZMAN HP ₁	Souche Z HP ₁	Souche BAIN HP ₁	Souche RATCLIFFE HP ₂	Souche ROIZMAN HP ₂	Souche BENFIELD HP ₂
Sérums expérimentaux									
Lapin 15	0		< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
15-1	+ 34		16	8	4	4	< 4	< 4	< 4
15-2	+ 49	(1)+ 15	1024	1024	1024	128	< 4	< 4	< 4
Lapin 17	0		< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
17-1	+ 34		64	32	64	16	< 4	< 4	< 4
17-2	+ 49	(1)+ 15	32	32	32	16	< 4	< 4	< 4
Lapin 18	0		< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
18-1	+ 34		64	32	32	16	< 4	< 4	< 4
18-2	+ 49	(1)+ 15	16	8	16	4	< 4	< 4	< 4
Lapin 12	0		16	8	8	< 4	< 4	8	< 4
12-1	+ 34		32	32	64	16	< 4	< 4	< 4
12-2	+ 49	(1)+ 15	64	128	64	16	< 4	< 4	< 4
12-3	+ 3m 26j		64	32	32	16	< 4	< 4	< 4
Lapin 152	+ 34		32	16	16	32	< 4	8	4
44-3	+ 49	(1)+ 15	64	32	64	64	< 8	< 4	< 4
Lapin 153	+ 34		32	128	64	32	< 8	< 4	< 4
44-4	+ 49	(1)+ 15	512	64	256	128	< 8	< 4	< 4

HP₁ = hémagglutination passive type 1

HP₂ = hémagglutination passive type 2

A.I = avant immunsisation

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'injection de rappel

autres virus herpès type 1.

Les sérums sont spécifiques mais nous ne pouvons pas retenir cette souche puisqu'elle a été isolée chez un malade.

Au vu de ces résultats, nous pouvons constater que :

- tous les virus herpès type 1 donnent des sérums spécifiques
- la réponse immunologique des lapins est plus ou moins importante selon la souche utilisée : la souche BAIN type 1 est la moins réactogène
- la souche RATCLIFFE type 1 est la plus immunogène.

B - SÉRUMS OBTENUS PAR IMMUNISATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE -

1 - Sérums anti herpès type 2 -

a - Souche RATCLIFFE type 2 -

Le lapin n° 22 n'a pas produit d'anticorps hémagglutinants.

b - Souche BENFIELD type 2 -

Le lapin n° 23 a donné des anticorps le sixième jour après immunisation vis-à-vis des virus herpès types 1 et 2.

c - Souche ROIZMAN type 2 -

Le lapin n° 24 a réagi par la production d'anticorps anti type 1 le treizième jour après immunisation. Ces anticorps persistent jusqu'au trente-quatrième jour après immunisation.

2 - Sérums anti herpès type 1 -

a - Souche RATCLIFFE type 1 -

Le lapin n° 26 n'a pas réagi.

TABLEAU XXII

DETECTION DES ANTICORPS HEMAGGLUTININANTS ANTI-HERPES TYPES 1 et 2
CHEZ LES LAPINS IMMUNISES AVEC LES SOUCHES DE REFERENCE HERPES TYPE 2

Immunisation par voie intraveineuse

Sérums de lapins anti herpès type 2	Nombre de jours après immunisation	Virus herpès type 1				Virus herpès type 2			
		Souche RATCLIFFE HP ₁	Souche ROIZMAN HP ₁	Souche Z HP ₁	Souche BAIN HP ₁	Souche RATCLIFFE HP ₁	Souche ROIZMAN HP ₁	Souche BENFIELD HP ₁	
Sérums expérimentaux Lapin 23	23 (A.I)								
	23-1	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
	23-2	256	64	16	8	32	64	64	64
	23-3	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
	23-4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
Lapin 24	24 (A.I)								
	24-1	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
	24-2	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
	24-3	64	32	32	16	< 4	< 4	< 4	< 4
	24-4	32	16	32	16	< 4	< 4	< 4	< 4

HP₁ = hémagglutination passive type 1

HP₂ = hémagglutination passive type 2

A.I. = avant immunisation

b - Souche ROIZMAN type 1 -

Le lapin n° 27 est mort.

c - Souche Z de GAJDUSEK type 1 -

Le lapin n° 25 est mort.

En général, la voie intraveineuse est moins immunogène que la voie intramusculaire.

Le problème de la spécificité de la réponse immunologique des lapins est à examiner plus en détail si nous voulons garder cette voie d'immunisation.

En raison des réponses immunologiques inconstantes et hétérospécifiques, nous recommandons la voie intramusculaire comme voie d'immunisation des lapins.

III . REPOSE IMMUNOLOGIQUE DE L'HOMME A L'INFECTION HERPETIQUE JUGEE
PAR LA PRODUCTION D'ANTICORPS DETECTES PAR HEMAGGLUTINATION
PASSIVE .

Nous avons à considérer deux ordres de faits :

- . des malades atteints d'infections herpétiques et chez lesquels un virus a été isolé.
- . des malades atteints d'infections cliniquement diagnostiquées sans isolement du virus.

A - MALADES CHEZ LESQUELS UN VIRUS HERPES A ETE ISOLE -

Nous avons titré les anticorps anti herpès types 1 et 2 dans 39 sérums provenant de 13 malades.

Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau XXIII (A) et (B).

1 . Primo-infections probables -

L'apparition d'anticorps anti-herpétiques chez un sujet qui en était dépourvu signe un premier contact avec le virus.

Dans le premier prélèvement de sang pratiqué dès le début de la maladie, en même temps que sont effectués les prélèvements virologiques, le taux des anticorps est nul. Celui-ci augmente de façon significative (titre multiplié par 4 ou plus) dans le deuxième prélèvement pratiqué au cours des 2ème ou 3ème semaines qui suivent le début de la maladie.

Sur les 13 cas étudiés, 8 présentent une infection vraisemblablement primaire (n° 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 13).

- Dans 5 cas, nous avons mis en évidence une augmentation significative du titre des anticorps hémagglutinants (n° 3, 5, 7, 10, 13).

Par ailleurs, pour certains patients, il nous a été possible

de différencier les infections dues au virus herpès type 1 ou au virus herpès type 2.

. Affections présumées dues au type 1 :

Pour deux patients (n° 7, 10), nous notons une augmentation significative du titre des anticorps anti herpès type 1.

Ces sujets présentent des signes cliniques qui évoquent une infection herpétique due au type 1 : la stomatite vésiculeuse.

. Affection présumées dues au type 2 :

Pour le patient n° 3, nous pouvons identifier le type de virus qui l'a infecté par la présence d'anticorps dirigés uniquement contre le type 2 et par les manifestations cliniques (herpès vulvaire). Mais, il est difficile d'affirmer qu'il s'agit d'une infection herpétique primaire ; le premier sérum a été prélevé 10 jours après le début de la maladie, ce qui expliquerait le titre élevé des anticorps anti type 2.

Pour les cas n° 5 et 13, nous constatons une augmentation du titre des anticorps parallèle, à la fois, en herpès type 1 et type 2.

Dans tous ces cas, sauf un (n° 3), le titre des anticorps dans le sérum précoce est inférieur à 8.

L'évolution et la répartition de ces anticorps est rapportée dans les figures 3a et 3b.

- Dans 3 cas, le titre des anticorps dans deux prélèvements successifs reste négatif (< 8) : n° 6, 8, 9.

. pour 2 d'entre eux, le délai entre les deux prélèvements est de trois jours (n° 6, 9).

. Pour le troisième (n° 8), il s'agit d'un jeune enfant dont le titre des anticorps est resté faible.

TABLEAU XXIII (A)
DETECTION DES ANTICORPS HEMAGGLUTININANTS ANTI-VIRUS HERPES TYPES 1 ET 2
CHEZ DES MALADES A PARTIR DESQUELS LE VIRUS A ETE ISOLE

NOM	AGE	ISOLEMENT DU VIRUS		SEROLOGIE				DONNEES CLINIQUES
		Nature du prélèvement	Date	Délai entre le prélèvement du sérum et l'isolement du virus	Nbre de jours après l'apparition des signes cliniques	HP ₁	HP ₂	
1. BAI H	18 a	cutané	23.12.71	- 4m 17j - 4m 12j - 4m 5j - 4m 2j - 3m + 1j + 4j + 8j	7 12 17 20 53 54 57 61	64 256 256 128 128 512 2048 2048	512 512 256 128 8 128 128 256	Herpès récurrent cutané. Fièvre.
2. COS M	7 a	gorge	8. 7.71	0 + 12j + 22j	6 18 28	256 256 128	64 128 128	Fièvre. Angine. Desquamation au niveau des mains.
3. DOS R	21 a	pustule vulve	16. 6.71	+ 1j + 9j + 1m	10 18 40	< 4 < 4 < 4	256 1024 128	Herpès vulvaire + méningite lymphocytaire et infection urinaire.
4. DOU O	51 a	ND gorge	21.11.72	0 + 21j	20 41	64 64	128 16	Eruption pustuleuse généralisée.
5. GOM J	12a 4m	ND gorge	ND 5. 1.73	-	7 14	4 16	4 16	ND
6. GSO Y	18 m	ND	ND	-	x + 2	< 4 4	< 4 4	Rhino-pharyngite + amygdalite.

TABLEAU XIII (3)

NOM	AGE	ISOLEMENT DU VIRUS		SEROLOGIE				DONNEES CLINIQUES
		Nature du prélèvement	Date	Délai entre le prélèvement du sérum et l'isolement du virus	Nbre de jours après l'apparition des signes cliniques	HP ₁	HP ₂	
7. GUS L	22 m	face interne de la joue	7.10.71	0 + 2j + 15j	1 3 16	< 4 < 4 512	< 4 < 4 < 4	Stomatite. Nombreux éléments vésiculeux et labiaux.
8. MEN P	21 m	gorge	13. 1.72	0 + 27j	6 33	< 2 4	< 2 2	Erythème morbilliforme. Amygdalite. Adénopathies. Fièvre.
9. NAR F	5 a	gorge	5. 1.72	0 + 3j	4 7	4 < 4	< 4 < 4	Gingivo-stomatite. Amygdalite. Adénopathies. Fièvre.
10. ROD L	21 m	gorge	ND 9. 3.73	-	1 11	< 4 32	< 4 4	Stomatite vésiculeuse. Bronchite.
11. RUI S	9 a	gorge	ND 12. 3.73	-	9 18 28 55	64 64 512 512	16 16 64 128	Sclérose en plaques.
12. SLI L	5a 6m	ND	ND	-	1 4 20 28	256 256 512 512	256 128 512 512	Taches purpuriques sur abdomen, cou, dos. Convulsions. Céphalées.
13. ZAI N	14m	gorge	6.10.72	+ 20j + 24j	10 44	2 16	< 2 32	Stomatite herpétique.

HP₁ : hémagglutination passive type 1 - HP₂ : hémagglutination passive type 2 - ND : non donné.

Figure 3a : Vétécution des anticorps hémagglutinants anti-virus herpès types 1 et 2 chez 5 malades à partir desquels le virus a été isolé (primo-infections herpétiques probables).

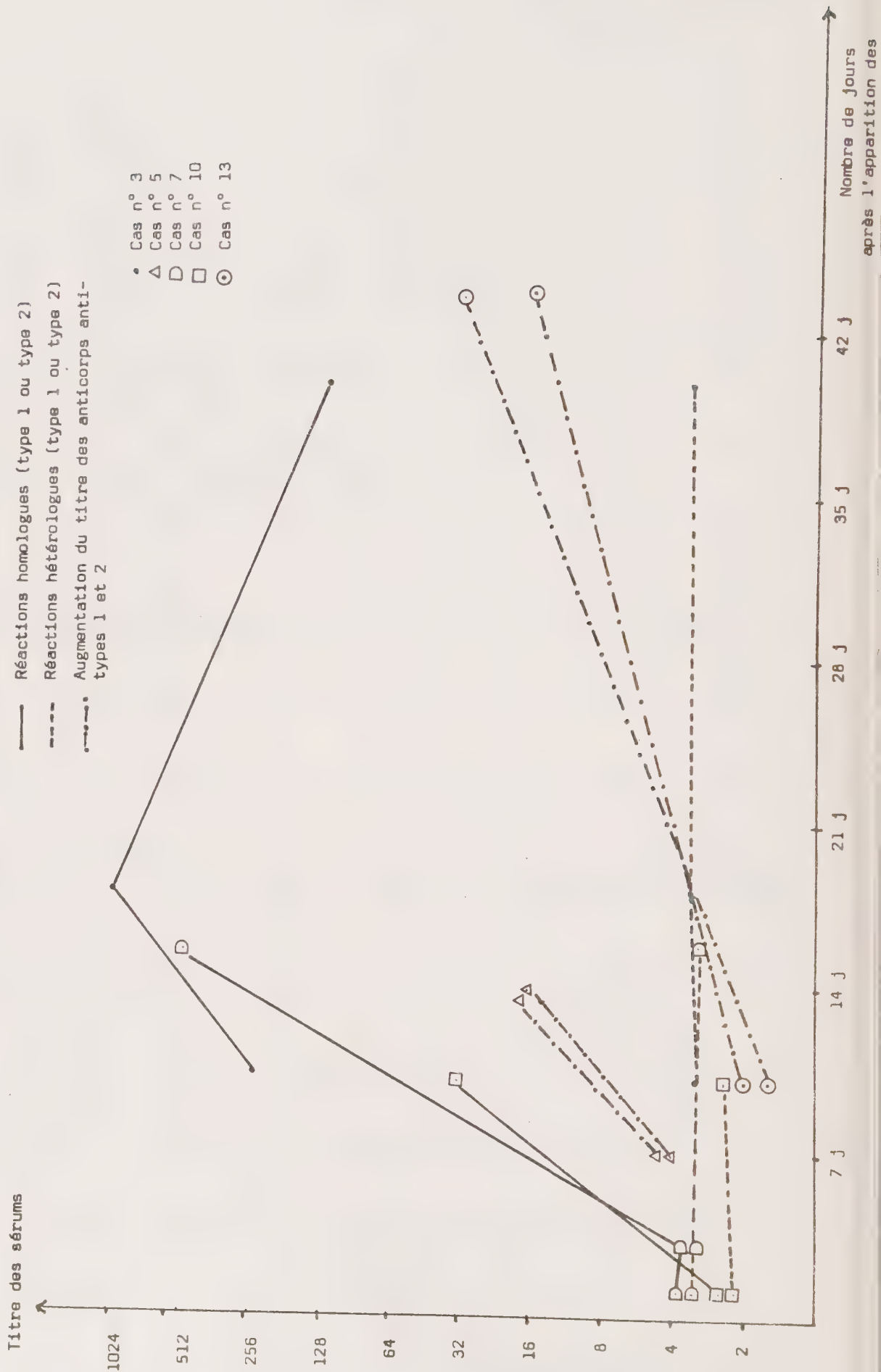
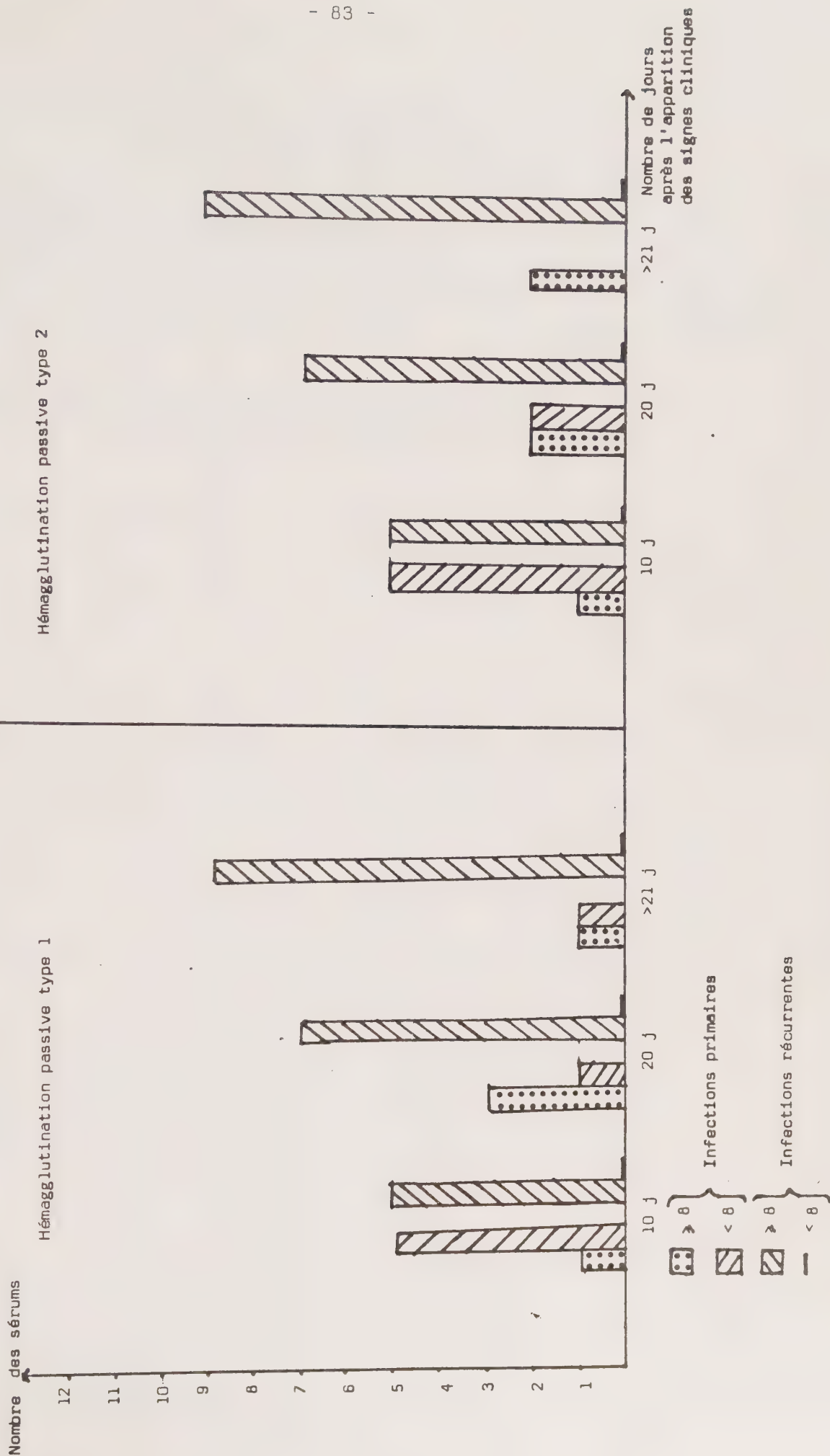


Figure 3b : Répartition des sérologies négatives (< 8) et positives (≥ 8) dans les infections herpétiques primaires et récurrentes en fonction du délai de prélèvement des sérums. (Virus isolé).



2 . Infections récurrentes probables .

On peut supposer que des sujets qui ont des anticorps anti-herpétiques dans un sérum prélevé précocément (jusqu'au 7ème jour après l'apparition des signes cliniques) ont été antérieurement infectés par le virus. Ces anticorps persistent longtemps après les premiers signes cliniques et leur titre varie peu (Tableau XXIII A et B).

Chez quatre patients (n° 2, 4, 11, 12) pour lesquels avait été établi le diagnostic clinique d'herpès, nous observons :

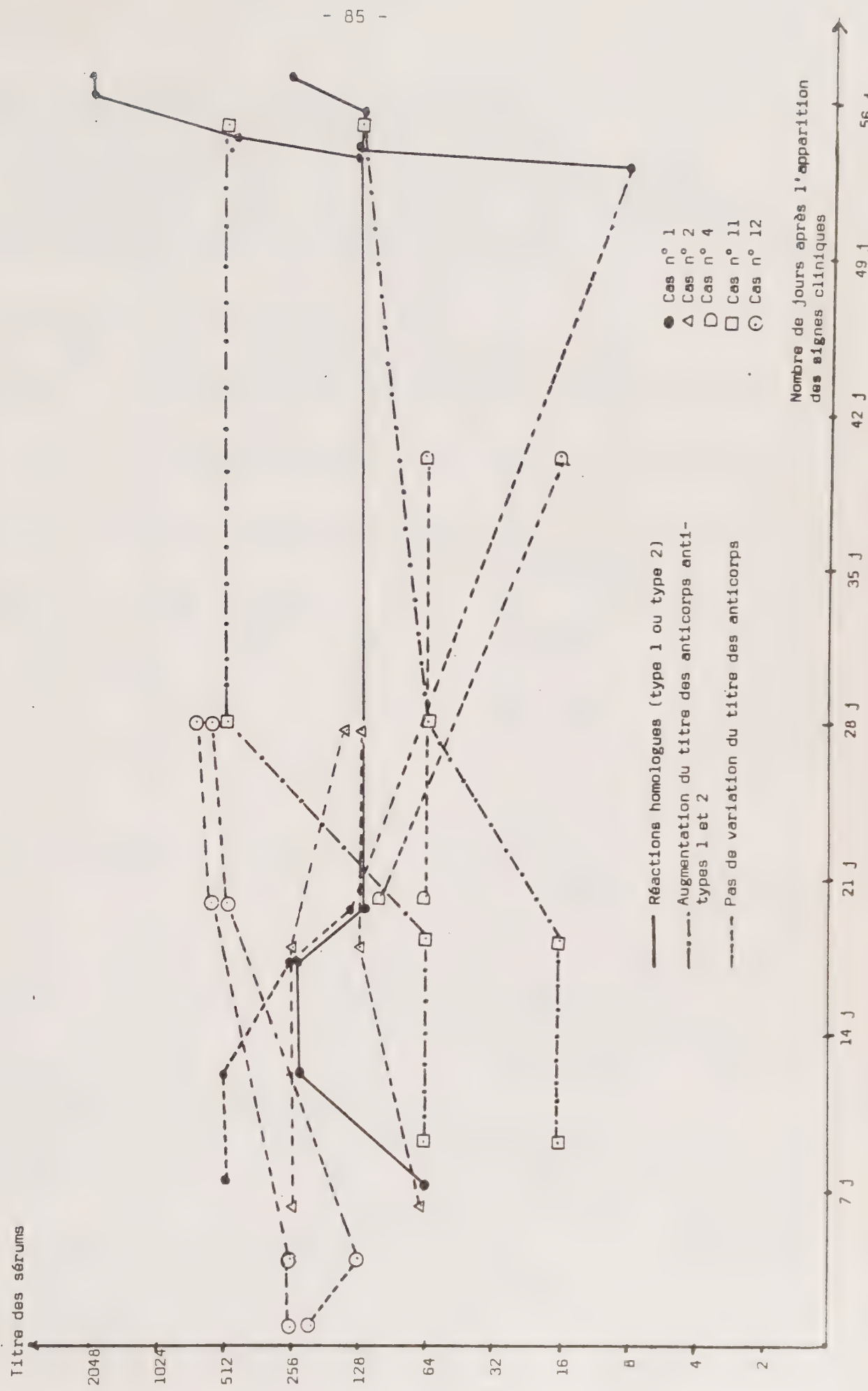
- Dans 3 cas, un titre élevé et ne variant pas, des anticorps dirigés, à la fois, contre le virus herpès type 1 et type 2.
- Dans 1 cas, un titre d'anticorps multiplié par 8 pour les deux types : n° 11.

Chez un patient atteint d'herpès récurrent cutané, nous avons suivi l'évolution du titre des anticorps hémagglutinants vis-à-vis des deux types et avons constaté, 54 jours après l'apparition des signes cliniques, une deuxième poussée d'herpès récurrent. En effet, les titres des anticorps anti types 1 et 2 passent de 128 à 2048 pour le type 1 et de 8 à 256 pour le type 2 : cas n° 1.

Au cours de cette récurrence, nous avons isolé un virus herpétique d'un prélèvement cutané.

L'évolution de ces anticorps est rapportée dans les figures 4 et 3b. L'absence des sérums négatifs (titre des anticorps inférieur à 8) est un argument en faveur du diagnostic clinique des infections récurrentes.

Figure 4: Détection des anticorps hémagglutinants anti-virus herpès types 1 et 2 chez 5 malades à partir desquels le virus a été isolé (infections récurrentes probables).



B - VALEUR DU DIAGNOSTIC CHEZ DES SUJETS ATTEINTS D'INFECTIONS
CLINIQUEMENT DIAGNOSTIQUEES SANS ISOLEMENT DU VIRUS -

CAS OU LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE EST FONDE SUR L'APPARITION
DES ANTICORPS OU SUR LEUR VARIATION SIGNIFICATIVE

Nous avons étudié les sérums de 34 patients atteints
d'infections dont les manifestations cliniques sont typiques de l'herpès : stomatite - angine érythémateuse - syndrome méningé.

1 . Primo-infections probables .

Sur les dix cas étudiés, l'évolution des anticorps a été
la suivante (Tableau XXIV).

En l'absence d'isolement du virus, nous avons pu mettre en
évidence une augmentation significative du titre des anticorps hémag-
glutinants, soit en herpès type 1, soit en herpès type 2, soit en
herpès type 1 ou type 2.

. Affection présumée due au type 1 : cas n° 1 -

L'augmentation significative du titre des anticorps anti-virus herpès
type 1 au 14ème jour de l'évolution de la maladie et la clinique
(stomatite) confirment l'infection herpétique due au type 1.

. Affections présumées dues au type 2 : cas n° 2, 6, 7, 10 -

Les anticorps sont dirigés uniquement contre le virus herpès type
2 et augmentent de façon significative.

. Affections présumées dues au virus herpétique, le type du
virus ne pouvant être identifié : Dans quatre cas (n° 3, 4, 5, 8),
nous constatons une augmentation du titre des anticorps parallèle, à
la fois, en herpès types 1 et 2.

L'évolution et la répartition de ces anticorps sont rap-
portées dans les figures 5a et 5b.

Dans un cas (n° 9), le titre des anticorps ne varie que

TABLEAU XXIV

DETECTION DES ANTICORPS HEMAGGLUTINANTS ANTI-VIRUS HERPES TYPES 1 ET 2
CHEZ DES MALADES ATTEINTS D'INFECTIONS HERPETIQUES CLINIQUEMENT DIAGNOSTIQUEES
Le virus n'a pas été isolé ou recherché

NOM	AGE	SEROLOGIE			DONNEES CLINIQUES
		Nombre de jours après l'appari- tion des signes cliniques	HP ₁	HP ₂	
1. BOZ F	5a 1m	9 14	8 32	2 8	Stomatite. Aphthose buccale.
2. BRU Ch	19 a	10 33	< 4 < 4	32 1024	Syndrome méningé. Vomissements.
3. CER F	23 a	10 15 19	< 4 64 512	< 4 1024 4096	Chorio méningite lympho- cytaire. Méningo encéphalite.
4. CIA H	2 a	6 32	< 4 64	< 4 16	Stomatite. Rhino-pharyngite.
5. JUA V	16 m	5 17 38 59	2 8 4 256	2 < 2 < 2 32	Stomatite herpétique. Lésions buccales.
6. KAR V	6 a	10 24	< 4 < 4	< 4 32	Maculo papules rouges sur la langue et le voile du palais
7. LAI S	7a 6m	7 12	4 8	4 128	Eruptions érythémateuses non prurigineuse mollets face externe des bras.
8. LUB Ch	3 a	x x + 19	< 4 256	< 4 32	Crise convulsive hyperthermique..
9. VIN H.D	4a 6m	12 20	< 4 < 4	32 64	Vésicules.
10. VOI A	ND	x x + 13	< 4 < 4	32 4096	Signes méningés cliniques. Adénopathie cervicale.

HP₁ : hémagglutination passive type 1

HP₂ : hémagglutination passive type 2

ND : non donné.

Figure 5a : Détection des anticorps hémagglutinants anti-virus herpès types 1 et 2

chez des malades atteints d'infections herpétiques cliniquement

diagnostiquées. Le virus n'a pas été isolé ou recherché. (Primo-infections herpétiques probables)

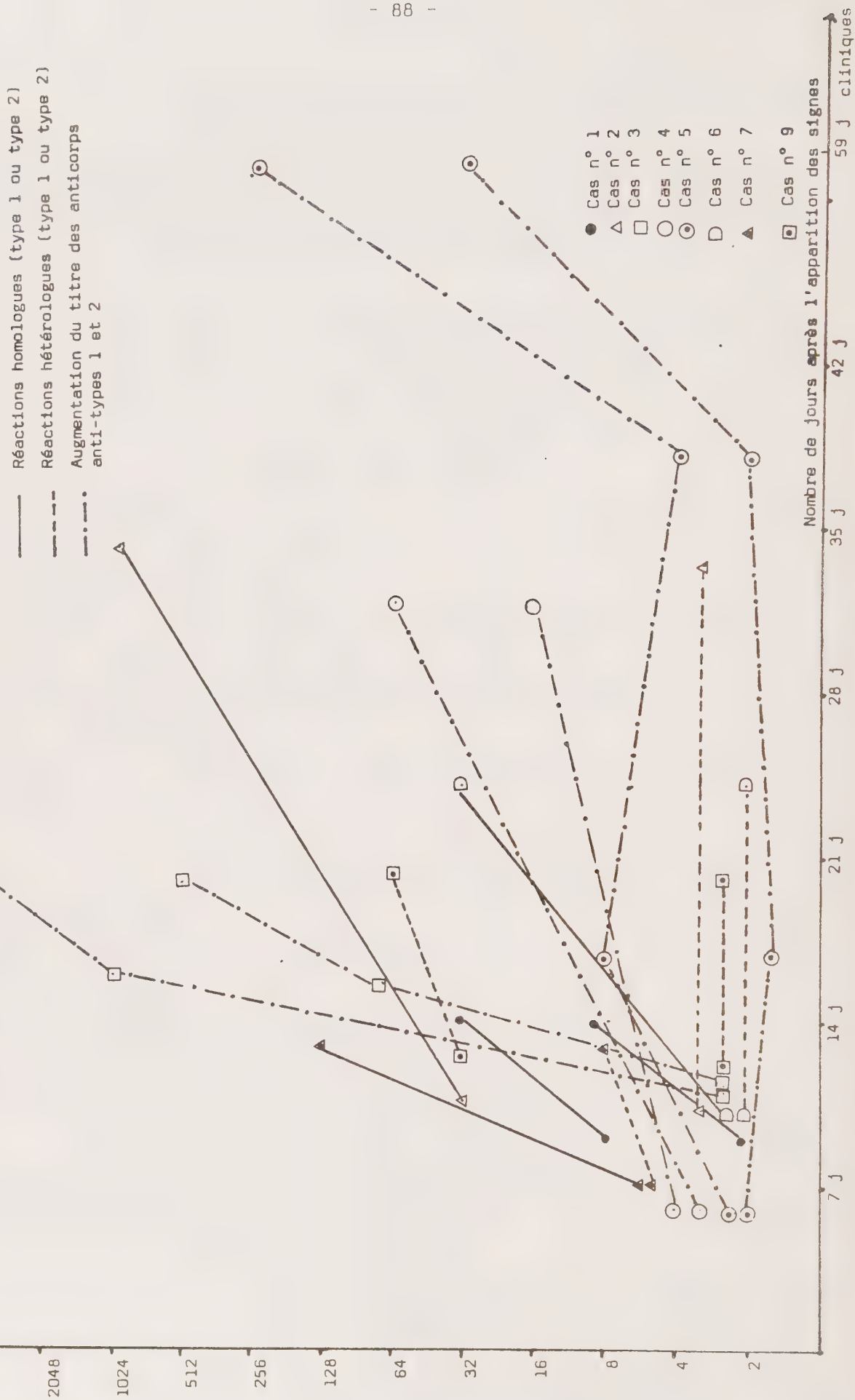
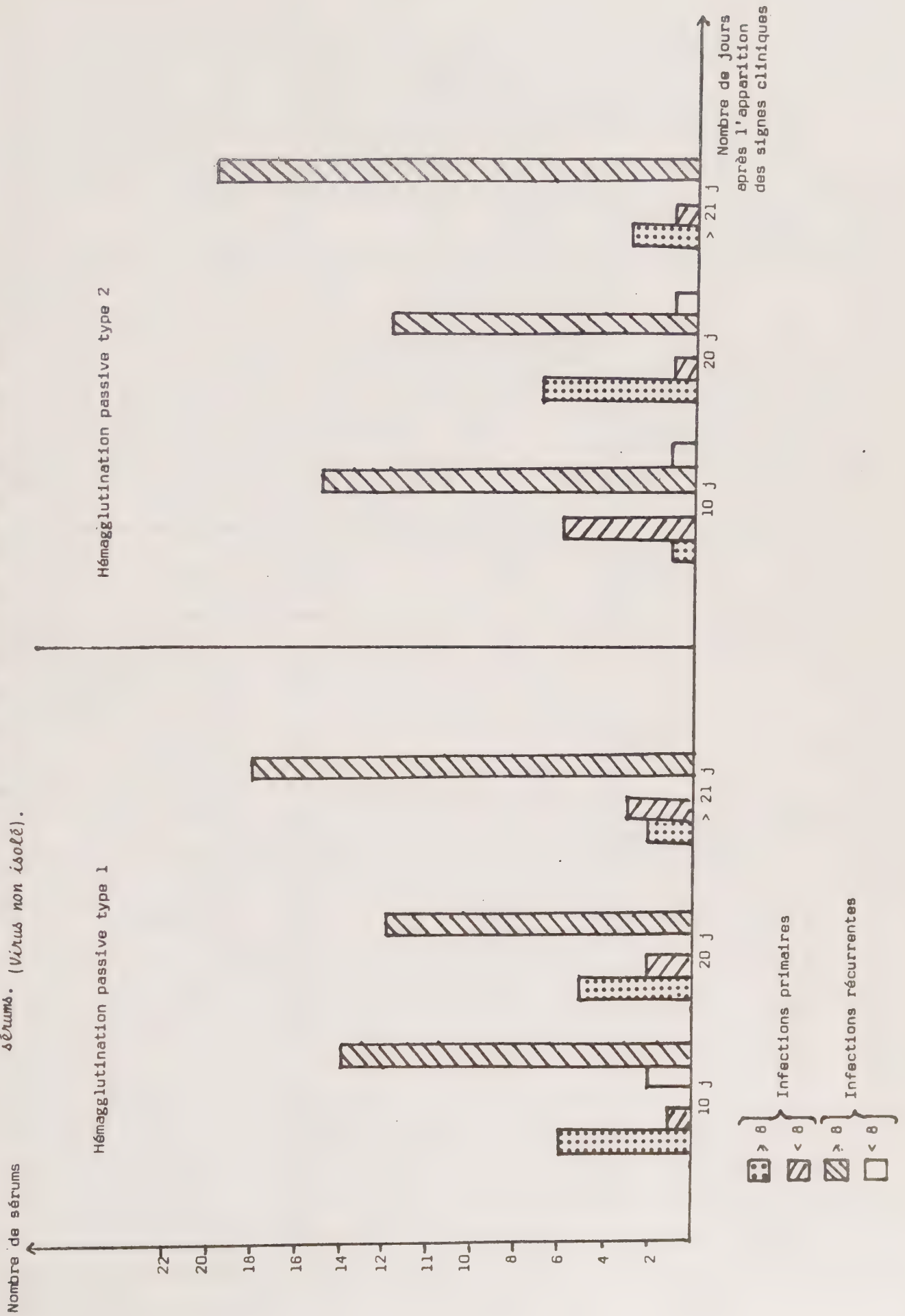


Figure 5b : Répartition des sérologies négatives (< 8) et positives (≥ 8) dans les infections herpétiques primaires et récurrentes en fonction du délai de prélèvement des sérums. (Virus non isolé).



TABEAU XXV

DETECTION DES ANTICORPS HEMAGGLUTINANTS ANTI-VIRUS HERPES TYPES 1 ET 2
CHEZ DES MALADES ATTEINTS D'INFECTIONS HERPETIQUES CLINIQUEMENT DIAGNOSTIQUEES
Le virus n'a pas été recherché ou isolé

NOM	AGE	SEROLOGIE			DONNEES CLINIQUES
		Nombre de jours après l'appari- tion des signes cliniques	HP ₁	HP ₂	
1. AGU N	4a 6m	8 20	2048 4096	128 256	Eruptions. Céphalées.
2. ALL Kh	11 a	8 22	64 64	128 128	Vésicules de la commissure labiale.
3. BAD A	7 a	3 9 33	< 2 4 < 8	64 128 32	Stomatite. Vulvite.
4. BAL H	43 a	6 27 39	1024 > 4096 > 4096	1024 1024 1024	Syndrome de Guillain - Barre Paraplégie flasque. Myalgie Pas de température.
5. BEN H	5a 10m	3 8	256 512	1024 4096	Amygdalite. Pharyngite. Fièvre.
6. BER M	3a 6m	5 9 23	8 64 64	128 128 128	Stomatite. Rhino-pharyngite Angine érythémateuse.
7. BLO Ch	3a 6m	6 13 57 4ème m.	64 32 4 512	64 64 16 256	Stomatite herpétique. Fièvre Exanthème.
8. CHA S	41 a	x x + 6 x + 28	1024 2048 1024	512 1024 512	Herpès labial. Purpura des membres inférieurs
9. COR J	41 a	11 18 48	128 128 64	512 256 256	Encéphalite herpétique. Monoplégie.
10. DAO F	1a 4m	x x + 8	16 128	128 1024	Purpura thrombopénique. Herpès labial.
11. JAR M	25 a	x x + 18	64 64	32 32	Eruptions vésiculeuses. Aphthose buccale.

12. DEL M	6 a	3 15 36 51 3ème m. 4ème m.	128 128 64 128 256 256	256 512 512 128 256 128	Stomatite. Fièvre.
13. DJA H	10 a	7 27	128 64	128 128	Cicatrice herpétique buccale Angine érythémateuse. Fièvre
14. HAR D	21 m	7 17 74	32 NF 128	16 NF 256	Aphtes gingivaux
15. JOS F	50a 5m	x x + 9 début de la maladie 1968	128 256	1024 256	Kératite + Ulcère de la cornée d'évolution chronique Herpès récidivant : début de la maladie : 1968
16. LAN S	3 a	2 11 26	32 8-16 8	32 16 16	Stomatite. Extension cutanée autour des lèvres et sur les joues.
17. LOD P	5 a	x x + 17	512 512	128 256	Petites vésicules sur le voile du palais.
18. LLO J	5a 3m	18 46	128 256	128 128	Vésicule labiale. Eruption érythémateuse.
19. MAT L	68 a	1 18	256 1024	4 32	Herpès labial.
20. HIH P	48 a	4 12	256 256	256 256	Ulcération grave de la cornée.
21. MOL L	ND	x x + 86	32 64	128 128	Ulcérations chroniques des muqueuses buccales et linguales.
22. MOU R	40 a	17 29 43	64 1024 1024	32 512 512	Méningo encéphalite herpétique.
23. MON N	10 a	15 22 42	128 256 256	64 64 128	Herpès labial récidivant.
24. PAU E	ND	7 19 34	64 128 128	64 32 32	Stomatite.
25. PER P	ND	7 14 18 24	256 512 1024 2048	128 128 256 512	Fièvre. Méningite lymphocy- taire. Eruptions fugaces cou et thorax

P₁ : hémagglutination passive type 1

ND : non donné

P₂ : hémagglutination passive type 2

NF : non fait

d'une dilution, mais le premier sérum, prélevé tardivement, est positif (titre = 32), ce qui expliquerait l'absence de montée des anticorps.

2 . Infections récurrentes probables .

Le diagnostic repose sur les données cliniques et sur la présence d'anticorps dans le sérum prélevé précocément et, ceci, chez 25 patients.

Le titre de ces anticorps peut ou non varier (Tableau XXV).

. Cas où le titre des anticorps augmente de façon significative (10 cas sur 25) :

- augmentation du titre des anticorps vis-à-vis du type 1 : nous l'observons dans deux cas (n° 4, 6).

- augmentation du titre des anticorps vis-à-vis du type 2 : elle est constatée dans deux cas (n° 3, 5).

En ce qui concerne le cas n° 3, l'infection récurrente serait due probablement au virus herpès type 2 puisque, du 3ème au 33ème jours qui suivent l'évolution des signes cliniques, nous notons seulement la présence d'anticorps anti-type 2.

- augmentation du titre des anticorps vis-à-vis des deux types : dans six cas (n° 7, 10, 14, 19, 22, 25), les anticorps sont dirigés contre les deux types du virus herpétique et augmentent de façon significative.

. Cas où le titre des anticorps ne varie pas, quel que soit le type du virus (15 cas sur 25) :

Dans les 15 cas (n° 1, 2, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 20, 22, 23, 24), le titre des anticorps est élevé dès le premier sérum et ne varie pas dans les autres sérums prélevés plusieurs jours après l'apparition des signes cliniques.

CAS OU LE DIAGNOSTIC N'EST FONDE QUE SUR LES DONNEES
CLINIQUES

Il s'agit de 7 patients pour lesquels le diagnostic biologique n'a pas été fait mais la clinique peut évoquer une infection herpétique.

Les résultats obtenus sont indiqués dans le Tableau XXVI.

TABLEAU XXVI

INFECTIONS HERPETIQUES CLINIQUES SANS REPONSE SEROLOGIQUE

NOM	AGE	SEROLOGIE			DONNEES CLINIQUES
		Nombre de jours après l'appari- tion des signes cliniques	HP ₁	HP ₂	
1. BEN P	3a 6m	5 12	2 4	< 2 < 2	Stomatite. Fièvre. Erythème morbilliforme.
2. GIR G	ND	10 23	< 4 4	< 4 8	Erosion labiale.
3. KHE D	3a 6m	23 34 45	< 4 < 4 8	< 4 4 8	Angine ulcéreuse avec points blancs. Crise asthmatiforme.
4. KHE R	4a 8m	4 14 25	< 4 < 4 < 4	< 4 4 8	Angine érythémateuse. Convulsions.
5. MAS A	18m	4 11	< 4 < 4	< 4 < 4	Stomatite.
6. REZ D	16m	7 24	< 4 < 4	4 < 4	Stomatite. Fièvre.
7. VAL M	12m	6 26	< 4 < 4	< 4 < 4	Angine. Stomatite. Vésicules. Exanthème.

HP₁ : hémagglutination passive type 1

HP₂ : hémagglutination passive type 2

ND : non donné.

CAS OU IL EXISTE DES ANTICORPS ANTI HERPES TYPES 1 ET 2 A DES TITRES ELEVES MAIS OU LA CLINIQUE N'EST PAS EVOCATRICE D'UNE AFFECTION HERPETIQUE

1 . Cas ininterprétables .

Nous avons titré les anticorps anti-herpès types 1 et 2 dans 18 sérums provenant de 7 malades atteints d'affections méningées mais pour lesquels nous n'avons pas pu faire la preuve du rôle du virus herpétique (Tableau XXVII).

TABLEAU XXVII

DETECTION DES ANTICORPS HEMAGGLUTINANTS ANTI-VIRUS HERPES TYPES 1 ET 2

NOM	AGE	SEROLOGIE			DONNEES CLINIQUES
		Nombre de jours après l'apparition des signes cliniques	HP ₁	HP ₂	
1. ALL Y	39 a	8	256	512	Infection sans localisation. Ponction lombaire Méningite lymphocytaire.
		21	512	256	
		34	256	256	
		42	256	1024	
2. BEN F	4 a	x	512	4096	Encéphalopathie.
		x + 29	256	1024	
3. BEZ K	6 a	2	2048	1024	Syndrome méningé Angine
		18	2048	512	
4. BOU B	32 a	11	128	256	Syndrome méningé. Fièvre. Bronchite.
		21	128	256	
5. LLO L	7 a	6	64	8	Méningite lymphocytaire.
		27	32	16	
6. PED P	9 a	5	256	256	Méningo-encéphalite.
		16	64	128	
		37	128	128	
7. VLO C	40 a	x	64	128	Maladie de Behcet (méningo-uvéite aphtose buccale et vaginale.
		x + 16	128	128	
		x + 27	64	128	

HP₁ : hémagglutination passive type 1 - HP₂ : hémagglutination passive type 2

Nous remarquons que, pour tous ces cas, le titre des anticorps est élevé et ne varie pas quel que soit le type.

2 . Cas particuliers .

Parmi les cas où il existe des anticorps anti-herpès types 1 et 2 mais où la clinique n'est pas évocatrice d'une affection herpétique, nous notons :

- une augmentation du titre des anticorps,
 - . au cours d'un traitement corticoïde : cas n° 1 ;
 - . au cours d'une rougeole : cas n° 2.
- une diminution du titre des anticorps chez un nouveau né de 19 jours qui présentait une hépatite néonatale : cas n° 3.

TABLEAU XXVIII

DETECTION DES ANTICORPS HEMAGGLUTINANTS ANTI-VIRUS HERPES TYPES 1 ET 2

NOM	AGE	SEROLOGIE			DONNEES CLINIQUES
		Nombre de jours après l'apparition des signes cliniques	HP ₁	HP ₂	
1. CHA M	15 a	4	8	128	Péricardite à rechute. Corticothérapie.
		19	16	256	
		32	16	512	
		44	32	256	
2. DEN V	10 a	23	512	256	Rougeole datant de 7 jours Exanthème morbillieux.
		41	4096	2048	
		3ème m.	2048	128	
3. FA.RO A	19 j	11	64	64	Hépatite néonatale. Oedème. Glossite. Evolution cirrhogène.
		24	32	16	
		1m 22j	32	32	
		2m 13j	8	16	
		6ème m.	4	8	

Nous avons résumé dans le Tableau XXIX, les données de l'hémagglutination passive appliquée au diagnostic des infections herpétiques primaires et récurrentes chez des sujets pour lesquels nous avons pu avoir des informations cliniques suffisantes au cours des années 1971-1972.

TABEAU XXIX

DIAGNOSTIC DES INFECTIONS HERPETIQUES PAR LA REACTION D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE

DONNEES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES	NOMBRE DE MALADES	NOMBRE DE SERUMS	ANTICORPS VIS-A-VIS DU VIRUS HERPETIQUE (1)		
			Type 1	Type 2	Types 1 + 2
Maladie + Virus isolé	13	39			
Herpès primaire (. Séro-conversion) (. Pas d'anticorps	5	12	2	1	2
Herpès récurrent (. Variation significative du titre des anticorps) (. Titre des anticorps stable	3	6	0	0	0
	2	12	0	0	2
	3	9	0	0	3
Maladie + Virus non isolé	35	91			
Herpès primaire (. Séro-conversion ou montée { d'anticorps) (. Variation d'une dilution ou { ler sérum tardif	9	21	1	4	4
Herpès récurrent (. Variation significative du titre des anticorps) (. Titre des anticorps stable	10	29	2	2	6
	15	39	0	0	15
Maladie + Pas de confirmation biologique	7	16	0	0	0
			5	8	32

(1) Les chiffres expriment des nombres de patients.

- Au cours des infections herpétiques probablement primaires, (pas d'anticorps décelable dans le sérum précoc), lors des manifestations oropharyngées, le virus herpès type 1 provoque l'apparition d'anticorps spécifiques de type, ou d'anticorps à la fois spécifiques et hétérospécifiques, mais les titres des anticorps anti type 1 sont toujours supérieurs aux titres des anticorps anti herpès type 2. Parfois, il n'y a pas de production d'anticorps décelable.

Lors des infections herpétiques génitales, méningées et accompagnées de purpura ou d'exanthème, on isole beaucoup plus fréquemment des herpès virus type 2 qui entraînent la production d'anticorps spécifiques.

Lorsque le virus n'est pas isolé, ce sont les anticorps anti herpès type 2 qui apparaissent : soit isolés, soit accompagnés d'une petite réaction hétérospécifique anti herpès type 1.

- Au cours des infections herpétiques cliniques récurrentes, (anticorps décelables dans le sérum précoc) seulement dans 8 cas sur 33, on observe une variation significative du titre des anticorps.

Seule une infection génitale n'est accompagnée que d'anticorps anti type 2 ; dans tous les autres cas, on observe des anticorps anti herpès type 1 et type 2 et on ne peut pas corrélér, avec la clinique, la prédominance d'anticorps anti herpès type 1 ou anti herpès type 2.

Donc, à l'inverse du lapin, l'homme a une réponse anticorps hémagglutinante spécifique vis-à-vis du virus herpès type 2 et l'hyperimmunisation, qui survient au cours des récurrences, modifie le degré des réponses hétérospécifiques au point que le diagnostic de type du virus herpès en cause dans les récurrences ne peut être fait sur le titrage des anticorps hémagglutinants.

IV . APPLICATION DE LA REACTION DE NEUTRALISATION A L'IDENTIFICATION DES SOUCHES DE REFERENCE .

Comme pour la réaction d'hémagglutination passive, les différents antigènes que nous avons préparés à partir des souches de référence ont été titrés vis-à-vis des sérums anti herpès types 1 et 2 et ont donné les résultats résumés dans les tableaux XXX à XXXII.

Dans les réactions de neutralisation, toutes les suspensions virales utilisées contenaient entre 30 et 100 DICT 50 / 0,05 ml.

A - SERUMS OBTENUS PAR IMMUNISATION PAR VOIE INTRAMUSCULAIRE -

Nous n'avons pas observé d'activité neutralisante non spécifique avec les sérums de lapins prélevés avant immunisation.

1 . Sérums anti herpès type 2 .

a - Souche RATCLIFFE type 2 -

Seul le lapin n° 3 a produit des anticorps neutralisants à titre faible (8) vis-à-vis de la souche homologue.

b - Souche ROIZMAN type 2 -

Les lapins n° 7 et n° 8 ont réagi de façon identique. Ils ont élaboré des anticorps homologues de titre moyen (32) qui sont au même titre contre les autres souches de type 2.

Il existe une réponse hétérospécifique au même titre contre tous les virus herpès type 1.

c - Souche BENFIELD type 2 -

Les lapins n° 6 et n° 159 ont réagi vis-à-vis de la souche homologue ainsi que des autres souches herpès types 1 et 2.

Comme pour la souche ROIZMAN, il existe une réaction hétéro-

TABLEAU XXX

DETECTION DES ANTICORPS NEUTRALISANTS ANTI HERPES TYPES 1 et 2
CHEZ LES LAPINS IMMUNISES AVEC LES SOUCHES DE REFERENCE HERPES TYPE 2

Immunisation par voie intramusculaire

Sérums de lapins anti herpès type 2	NOMBRE DE JOURS APRES		Virus herpès type 1				Virus herpès type 2		
	Immunisation	Rappel	Souche RATCLIFFE N ₁	Souche ROIZMAN N ₁	Souche Z N ₁	Souche BAIN N ₁	Souche RATCLIFFE N ₂	Souche ROIZMAN N ₂	Souche BENFIELD N ₂
Sérums expérimentaux Lapin 7 7-1 7-2 7-3	0		< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	+ 34		8	16	32	16	4	8	8
	+ 49	(1)+ 15	8	32	32	16	8	32	16
	+ 3m 26j		8	32	32	16	8	< 8	8
Lapin 8 8-1 8-2 8-3	0		< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	+ 34		8	16	32	8	4	8	< 8
	+ 49	(1)+ 15	16	16	32	16	8	16	< 8
	+ 3m 26j		16	16	16	16	16	16	8
Lapin 6 6-1 6-2 6-3	0		< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	+ 34		8	16	16	16	8	16	16
	+ 49	(1)+ 15	8	32	16	8	8	16	32
	+ 3m 26j		< 8	16	< 8	< 8	< 8	16	< 8
Lapin 159 44-8 44-10 44-11	+ 35		16	16	16	16	16	16	8
	+ 8m 5j	(2)+ 12	16	32	64	32	32	32	16
	+ 8m 39j	(3)+ 14	32	16	64	32	64	256	64
Sérum de référence	Date du sérum de référence								
Sérum de lapin anti virus herpès type 2 de NAHMIAS	8. 4.1971		8	8	16	16	32	256	16

N₁ = neutralisant type 1
N₂ = neutralisant type 2

A.I = avant immunisation

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre
d'injection de rappel.

spécifique au même titre contre tous les virus herpès type 1.

2 . Sérum de référence .

Le sérum anti type 2 de NAHMIAS réagit vis-à-vis de toutes les souches herpès types 1 et 2 sauf la souche RATCLIFFE type 1.

Le meilleur titre en anticorps est observé avec la souche ROIZMAN type 2.

3 . Sérums anti herpès type 1 .

a - Souche RATCLIFFE type 1 -

Le lapin n° 15 a réagi vis-à-vis de la souche homologue et des autres virus herpès type 1 (anticorps au titre de 64). Il existe des anticorps hétérospécifiques vis-à-vis des virus herpès type 2.

b - Souche ROIZMAN type 1 -

Les lapins n° 17 et 18 ont réagi de façon sensiblement identique. Les titres en anticorps homologues sont moyens (16) ; les sérums obtenus sont spécifiques.

c - Souche Z de GAJDUSEK type 1 -

Les sérums sont spécifiques et donnent des titres moyens en réponse homologue (32).

d - Souche BAIN -

Les titres en anticorps obtenus vis-à-vis de cette souche et des autres souches type 1 sont moyens (32).

Présence d'anticorps hétérospécifiques vis-à-vis des souches RATCLIFFE et ROIZMAN type 2.

L'ensemble de ces résultats nous a permis de constater que :

- l'immunisation donne en général des anticorps à titre faible

DETECTION DES ANTICORPS NEUTRALISANTS ANTI HERPES TYPES 1 et 2
CHEZ LES LAPINS IMMUNISES AVEC LES SOUCHES DE REFERENCE HERPES TYPE 1

Immunisation par voie intramusculaire

Sérums de lapins anti herpès type 1	NOMBRE DE JOURS APRES		Virus herpès type 1				Virus herpès type 2									
	Immunisation	Rappel	Souche RATCLIFFE		Souche ROIZMAN		Souche Z		Souche BAIN		Souche RATCLIFFE		Souche ROIZMAN		Souche BENFIELD	
			N ₁	N ₂	N ₁	N ₂	N ₁	N ₂	N ₁	N ₂	N ₁	N ₂	N ₁	N ₂	N ₁	N ₂
Sérums expérimentaux																
Souche RATCLIFFE	Lapin 15															
	15 (A.I)	0	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	15-1	+ 34	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32	32	32	8	8
	15-2	+ 49	32	64	64	64	64	64	32	32	16	16	16	16	8	8
Souche ROIZMAN	Lapin 17															
	17 (A.I)	0	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	17-1	+ 34	< 8	8	8	8	8	8	8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	17-2	+ 49	< 8	16	16	16	16	16	32	32	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
Souche Z	Lapin 18															
	18 (A.I)	0	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	18-1	+ 34	16	16	16	16	16	16	8	8	< 4	< 4	< 4	< 8	< 8	< 8
	18-2	+ 49	4	4	16	16	16	16	< 4	< 4	< 4	< 4	< 8	< 8	< 8	< 8
Souche Z	Lapin 10															
	10 (A.I)	0	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	10-1	+ 34	8	8	16	16	16	16	8	8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	10-2	+ 49	16	16	16	16	16	16	16	16	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	10-3	+ 3m 26j	8	8	8	8	8	16	4	4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
Souche BAIN	Lapin 12															
	12 (A.I)	0	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	12-1	+ 34	8	8	16	16	16	16	8	8	< 4	< 4	< 4	< 8	< 8	< 8
	12-2	+ 49	8	8	32	32	32	32	16	16	4	4	4	< 8	< 8	< 8
	12-3	+ 3m 26j	8	8	16	16	32	32	8	8	< 4	< 4	< 4	< 8	< 8	< 8
Souche BAIN	Lapin 152															
	44-3	+ 34	8	8	32	32	32	32	16	16	8	8	32	32	< 8	< 8
	44-6	+ 49	16	16	32	32	64	64	32	32	16	16	32	32	< 8	< 8
Souche BAIN	Lapin 153															
	44-4	+ 34	16	16	32	32	64	64	32	32	8	8	8	8	< 8	< 8
	44-7	+ 49	16	16	64	64	128	128	32	32	16	16	32	32	8	8

N₁ = neutralisation type 1

N₂ = neutralisation type 2

A.I = avant immunisation

Le chiffre entre parenthèse indique le nombre d'injection de rappel.

- il serait nécessaire d'effectuer des rappels pour essayer d'augmenter les titres des anticorps.

- les virus herpès type 2 donnent des sérums anti type 2 non spécifiques : présence d'anticorps homo et hétérospécifiques.

Les souches hétérospécifiques les moins neutralisées sont les souches RATCLIFFE type 1 et BAIN type 1.

De plus, les sérums obtenus sont, en général, de même valeur que le sérum anti type 2 de référence de NAHMIAS.

- les virus herpès type 1 : ROIZMAN et Z, donnent des sérums anti type 1 qui possèdent des anticorps homospécifiques.

Par contre, les virus herpès type 1 : RATCLIFFE et BAIN, donnent des sérums anti type 1 qui ont des anticorps hétérospécifiques.

Mais la souche hétérospécifique BENFIELD type 2 est la moins neutralisée.

B . SÉRUMS OBTENUS PAR IMMUNISATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE .

En général, pas de production d'anticorps décelables sauf vis-à-vis de la souche RATCLIFFE type 2 à des titres très faibles (8) et de la souche ROIZMAN type 2 à des titres plus élevés (32).

La souche ROIZMAN type 2 provoque aussi une réponse hétérospécifique anti herpès type 1 comme dans l'immunisation par voie intramusculaire.

L'utilisation de la réaction de neutralisation, comme celle d'hémagglutination passive, nous permet de constater que la voie intramusculaire est meilleure par rapport à la voie intraveineuse.

Mais l'existence des réponses hétérospécifiques chez les lapins à l'immunisation par différents virus herpès type 1 et type 2 nous a amenée à rechercher si des facteurs non spécifiques des virus pouvaient intervenir et si l'on pouvait améliorer la spécificité des sérums par des absorptions. En outre, l'étude des sérums fractionnés

TABEAU XXXII
DETECTION DES ANTICORPS NEUTRALISANTS ANTI HERPES TYPES 1 et 2
CHEZ LES LAPINS IMMUNISES AVEC LES SOUCHES DE REFERENCE HERPES TYPE 2

Immunisation par voie intraveineuse

Immunisation virus herpès Type 2	Sérums de lapins anti herpès type 2	Nombre de jours après immunisation	Virus herpès type 1					Virus herpès type 2			
			Souche Z N ₁	Souche RATCLIFFE N ₁	Souche ROIZMAN N ₁	Souche BAIN N ₁	Souche BENFIELD N ₂	Souche RATCLIFFE N ₂	Souche ROIZMAN N ₂		
Souche RATCLIFFE	Sérums expérimentaux Lapin 22										
	22 (A.I)	0	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	22-1	+ 6	< 8	< 4	< 8	< 4	< 8	< 4	< 8	< 8	< 8
	22-2	+ 13	8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	22-3	+ 20	8	< 4	< 8	< 4	8	8	8	8	8
	22-4	+ 34	< 8	4	< 8	< 4	< 8	8	8	8	8
	22-5	+ 4m	< 8	< 4	< 8	< 4	< 8	< 4	< 8	< 8	< 8
Souche ROIZMAN	Lapin 24										
	24 (A.I)	0	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
	24-1	+ 6	< 8	< 4	< 8	< 4	< 8	< 4	< 8	< 8	< 8
	24-2	+ 13	16	< 4	< 8	< 4	< 8	< 4	< 8	8	8
	24-3	+ 20	32	8	16	8	8	8	8	8	8
	24-4	+ 34	32	8	< 8	8	< 8	4	< 8	8	8

N₁ = neutralisation type 1
N₂ = neutralisation type 2
A.I = avant immunisation

permettait de localiser les réactions homo et hétérospécifiques en fonction de la localisation des immunoglobulines.

V . ETUDE DU RÔLE DES ANTICORPS ANTI CELLULES RK 13 DANS LES REACTIONS D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE ET DE NEUTRALISATION .

Les suspensions virales ayant servi à l'immunisation des lapins contiennent des constituants cellulaires. Seule une centrifugation lente a permis d'éliminer les gros débris cellulaires ; les virus n'ont pas été purifiés et même après purification, il est bien admis qu'ils ont incorporé des constituants cellulaires dans leur enveloppe.

Dans le but d'étudier le rôle des anticorps anti cellules dans les réactions d'hémagglutination passive et de neutralisation, deux lapins ont été inoculés avec une suspension de cellules RK 13 non infectées, par voie intramusculaire et un lapin par voie intraveineuse.

La concentration cellulaire est d'environ 350 000 cellules par ml.

Les suspensions cellulaires sont conservées, comme les antigènes, à - 70°.

Les sérums anti cellules RK 13 ont été testés par les réactions d'hémagglutination passive, neutralisation et fixation du complément.

Les trois lapins n'ont pas produit d'anticorps hémagglutinants ou neutralisants décelables ; la présence d'un pouvoir anticomplémentaire dans les sérums provenant de ces lapins n'a pas permis l'utilisation de cette technique.

Bien qu'il soit possible d'éliminer le pouvoir anticomplémentaire par des dilutions des sérums dans du complément frais de cobaye, nous n'avons tout de même pas utilisé cette technique mais seulement les réactions d'hémagglutination passive et de neutralisation qui nous ont servi au cours de notre travail.

Nous constatons donc que :

- les lapins s'immunisent très mal contre les cellules provenant de la même espèce et de la même lignée.
- les anticorps anti cellules RK 13 n'interviennent pas dans la spécificité ou non spécificité de l'héماغglutination passive et neutralisation vis-à-vis des virus herpès types 1 et 2.

Par précaution, tous les sérums de lapins ont été absorbés par les cellules RK 13 avant d'être utilisés dans les tests et les sérums anti cellules RK 13 ont toujours été introduits comme témoins dans les réactions.

VI . ESSAI D'AMELIORATION DE LA SPECIFICITE PAR ABSORPTION DES SERUMS
SUR DES HEMATIES SENSIBILISEES PAR DES VIRUS HERPES .

1 . Sérums anti herpès type 2 .

Ce sont les sérums anti herpès type 2 qui présentent le plus de réactions hétérospécifiques dans les deux méthodes d'héماغglutination passive et neutralisation.

Après traitement par les souches homologues type 2 et hétérospécifiques type 1, les titres héماغglutinants des sérums diminuent à la fois vis-à-vis des virus herpès types 1 et 2.

Pour un sérum anti herpès type 2 : 44-10, le traitement par les héματος tannées sensibilisées avec le virus type 1, a diminué de **quatre fois** le titre des anticorps anti type 2 par rapport à celui obtenu avec le traitement par le virus homologue.

Le traitement de ces sérums ne fait pas varier le titre des anticorps neutralisants.

2 . Sérums anti herpès type 1 .

Le traitement par le virus homologue fait varier le titre en anticorps homologues en les éliminant parfois mais le traitement par les virus hétérospécifiques ne fait pas varier ou très peu le titre des anticorps.

Comme pour les sérums anti type 2, ce traitement n'agit pas sur le titre des anticorps neutralisants.

Les résultats sont réunis dans le tableau XXXIII.

N_1 = neutralisation type 1
 N_2 = neutralisation type 2
 HP_1 = hémagglutination passive type 1
 HP_2 = hémagglutination passive type 2
I.I = avant immunisation
GRTS = hématies tannées sensibilisées
T = sérum traité par hématies tannées + cellules RK 13
 $T t_2$ = sérum traité par cellules RK 13 puis GRTS t_2
 $T t_1$ = sérum traité par cellules RK 13 puis GRTS t_1
* = souche BENFIELD
◦ = souche RATCLIFFE
Δ = souche Z
⊙ = souche BAIN
+ = souche ROIZMAN

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'injection de rappel.

TABLEAU XXXIII

EFFET DE L'ABSORPTION SUR DES HEMATIES SENSIBILISEES
PAR LE VIRUS HERPES SUR LES ANTICORPS HEMAGGLUTINANTS ET NEUTRALISANTS

Sérums de lapins	NOMBRE DE JOURS APRES		Virus herpes types 2 homologue		Virus herpes type 1 hétérospécifique	
	Immunisation	Rappel	HP ₂	N ₂	HP ₁	N ₁
<u>Sérums anti herpes type 2</u>						
. Souche RATCLIFFE						
Lapin 3	3-2 T		128	< 8	128	< 8
	3-2 T t ₂ °		64	4	32	< 4
	3-2 T t ₁ °	+ 49	32	< 4	32	4
. Souche ROIZMAN						
Lapin 7	7-2 T		512	32	256	32
	7-2 T t ₂ °	+ 49	64	32	64	32
	7-2 T t ₁ °	(1)+ 15	64	16	64	16
. Souche BENFIELD						
Lapin 8	8-1 T	+ 34	64	8	256	16
	8-1 T t ₂ °		8	8	64	16
	8-1 T t ₁ °		< 4	8	64	16
	8-3 T		64	16	256	16
	8-3 T t ₂ °	+ 3m 28j	8	16	64	16
	8-3 T t ₁ °		8	16	64	8
Lapin 159	44-10 T	+ 8m 5j	2048	32	256	16
	44-10 T t ₂ °	(2)+ 12	256	32	512	16
	44-10 T t ₁ °		64	32	NF	16
<u>Sérums anti herpes type 1</u>						
. Souche RATCLIFFE						
Lapin 15	15-2 T		1024	32	< 4	16
	15-2 T t ₁ °	+ 49	32	16	< 4	32
	15-2 T t ₂ °	(1)+ 15	1024	16	< 4	16
. Souche Z						
Lapin 12	12-2 T		64	32	< 4	< 8
	12-2 T t ₁ °		16	NF	< 4	NF
	12-2 T t ₂ °	+ 49	16	16	< 4	NF
. Souche BAIN						
Lapin 153	44-3 T	+ 34	16	16	< 4	4
	44-3 T t ₁ °		< 4	16	< 4	8
	44-3 T t ₂ °		16	8	< 4	4
	44-6 T		32	32	< 4	16
	44-6 T t ₁ °	+ 49	8	16	< 4	16
	44-6 T t ₂ °	(1)+ 15	16	16	< 4	16
	44-4 T		32	32	< 4	8
	44-4 T t ₁ °		8	16	< 4	8
	44-4 T t ₂ °		16	8	< 4	8

VII . ETUDE DES SÉRUMS NON ABSORBES ET ABSORBES SUR CELLULES RK 13 APRES FRACTIONNEMENT .

Tous les sérums ont été, au préalable, traités par des hématies de mouton pour éliminer les réactions mouton - anti mouton.

Les fractions des sérums obtenues par ultracentrifugation en gradient de saccharose ont été engagées dans les réactions d'hémagglutination passive et de neutralisation.

A - REACTION D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE -

Tous les sérums prélevés avant immunisation ne possèdent pas d'inhibiteurs non spécifiques sauf un sérum : n° 12 et à titre faible. Ces sérums n'ont donc pas été fractionnés.

L'hémagglutination passive a été appliquée aux fractions des sérums prélevés après immunisation.

Nous avons essayé de localiser les réactions hétérospécifiques et de voir s'il existait ou non des réactions non spécifiques.

1 . Choix des sérums positifs .

Notre choix a porté sur des sérums à hauts titres vis-à-vis des différents virus.

La réaction a été pratiquée immédiatement après la collecte des fractions de sérums ou après congélation à -20° qui ne fait pas varier le titre des anticorps.

2 . Etablissement de la courbe de concentration protéique en fonction de l'absorption à 260 nanomètres.

La concentration protéique de chacune des fractions est déterminée par la mesure de la densité optique à 260 nanomètres.

Sérum anti type 2 : pic dans la région des IgG (fractions 5 - 6 - 7).

Sérum anti type 1 : pic dans la région des IgG (fractions 4 - 5 - 6) en général.

3 . Recherche des anticorps homologues par hémagglutination passive et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13 .

Avant la centrifugation, chaque sérum est traité soit avec des hématies à 50 p. 100, soit avec des cellules RK 13 + hématies tannées.

Les résultats sont résumés dans les figures 6 à 13.

Lire pour T : sérum traité par hématies 50 p. 100

T^a : sérum traité par hématies tannées puis cellules RK 13.

. Sérums anti-herpès type 2 (Souche RATCLIFFE)

- La courbe de concentration protéique a été établie pour le sérum 3 - 2. L'absorption sur cellules RK 13 ne modifie pas sensiblement le profil (fig. 6b).

- Les sérums 2 - 1, 2 - 2 et 3 - 2 ont été traités par les cellules RK 13 et fractionnés.

Les résultats sont les suivants :

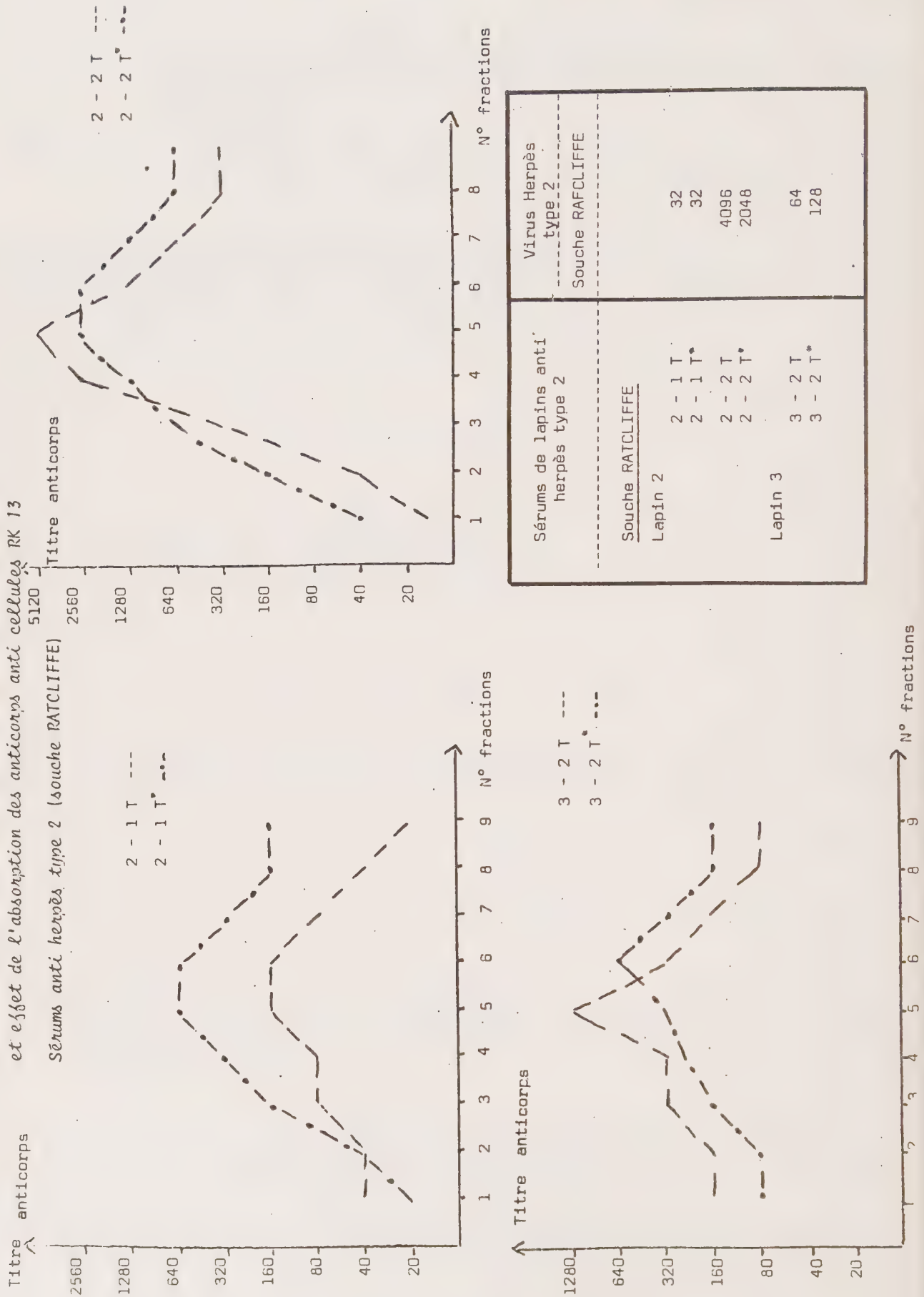
Quel que soit le traitement utilisé, les titres hémagglutinants sont positifs dans toutes les fractions avec un pic situé au niveau des fractions 4 - 5 - 6 - 7.

Nous remarquons que :

- les titres hémagglutinants dans les fractions sont proportionnels à ceux obtenus dans le sérum total

- le traitement n'élimine pas les anticorps hémagglutinants

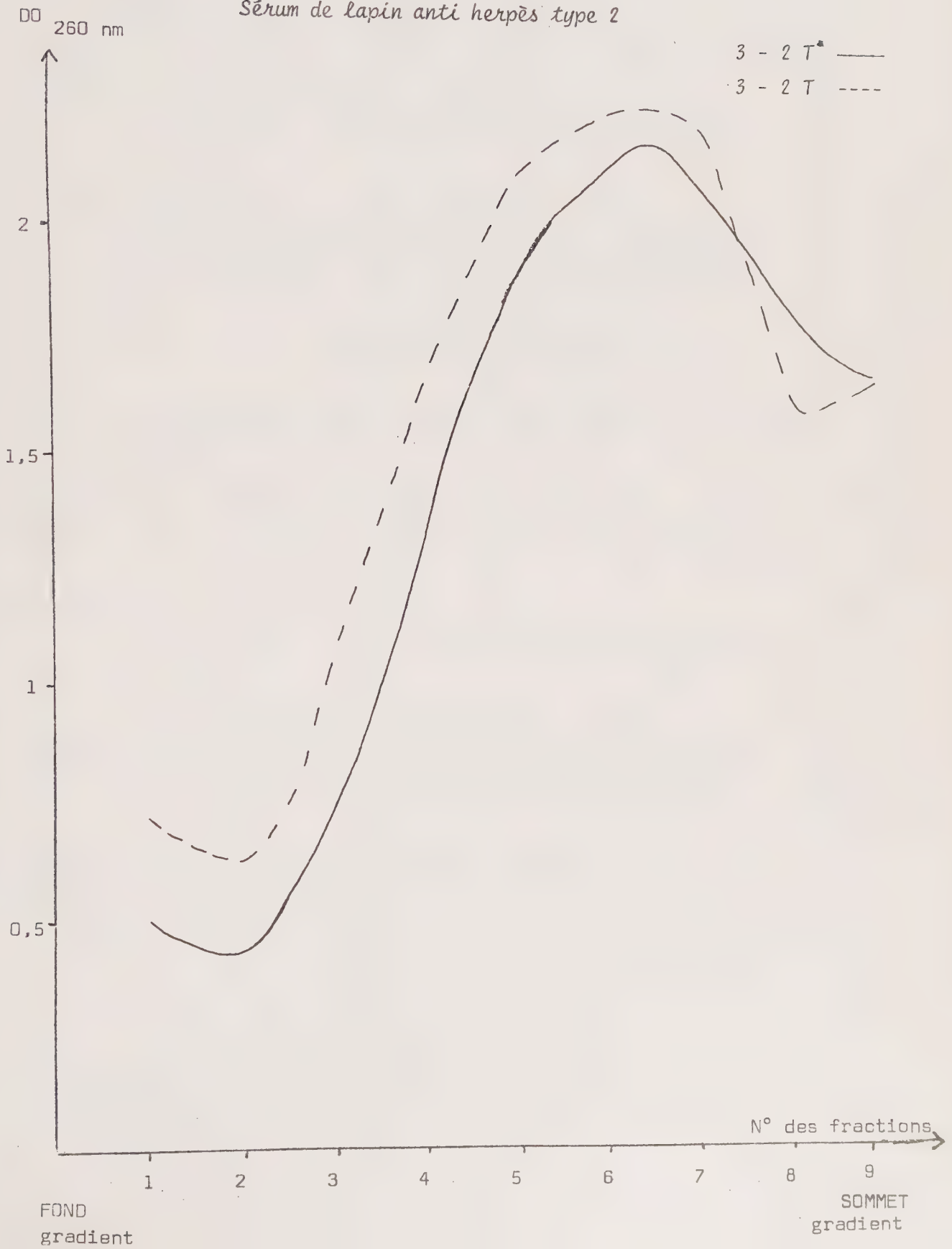
Figure 6 a: Recherche des anticorps homologues par hémagglutination passive et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13



COURBE DE CONCENTRATION PROTEIQUE

Fig. 6 b :

Sérum de lapin anti herpès type 2



sur les fractions lourdes ou légères et il n'influe pas de façon significative ni sur les titres des sérums avant fractionnement ni sur ceux des fractions de ces sérums.

. Sérums anti herpès type 2 (Souche ROIZMAN)

Pour le sérum 7-2 traité par hématies à 50 p. 100 ou par cellules RK 13 puis hématies tannées, nous obtenons les mêmes résultats que pour les sérums anti herpès type 2 ci-dessus.

Pour les sérums du lapin 8, le traitement par cellules RK 13 puis hématies tannées a éliminé les anticorps dans les fractions lourdes et a diminué le titre hémagglutinant des fractions légères du sérum 8 - 1.

A noter qu'un sérum : 8-1 n'a pas d'anticorps hémagglutinants dans les deux premières fractions.

. Sérum anti herpès type 2 (Souche BENFIELD)

Le sérum 44-10 traité par hématies à 50 p. 100 ou par cellules RK 13 puis hématies tannées a des anticorps dans toutes les fractions avec un maximum dans les fractions 4 - 5 - 6.

Ces résultats ont été observés vis-à-vis des souches BENFIELD type 2 et RATCLIFFE type 2.

Nous pouvons dire que les sérums anti herpès type 2 montrent une activité hémagglutinante dans toutes les fractions des sérums avec un pic d'activité dans les fractions 4 - 5 - 6 - 7.

Le traitement par les cellules RK 13 puis hématies tannées n'a influencé qu'une fois le titre hémagglutinant des fractions lourdes et légères dont l'hémagglutination était recherchée en présence de la souche ROIZMAN type 2.

. Sérum anti herpès type 1 (Souche Z)

La courbe de concentration protéique a été établie pour le sérum 12-2. L'absorption sur cellules RK 13 réduit notablement la densité

Figure 7 : Recherche des anticorps homologues par hémagglutination passive et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13

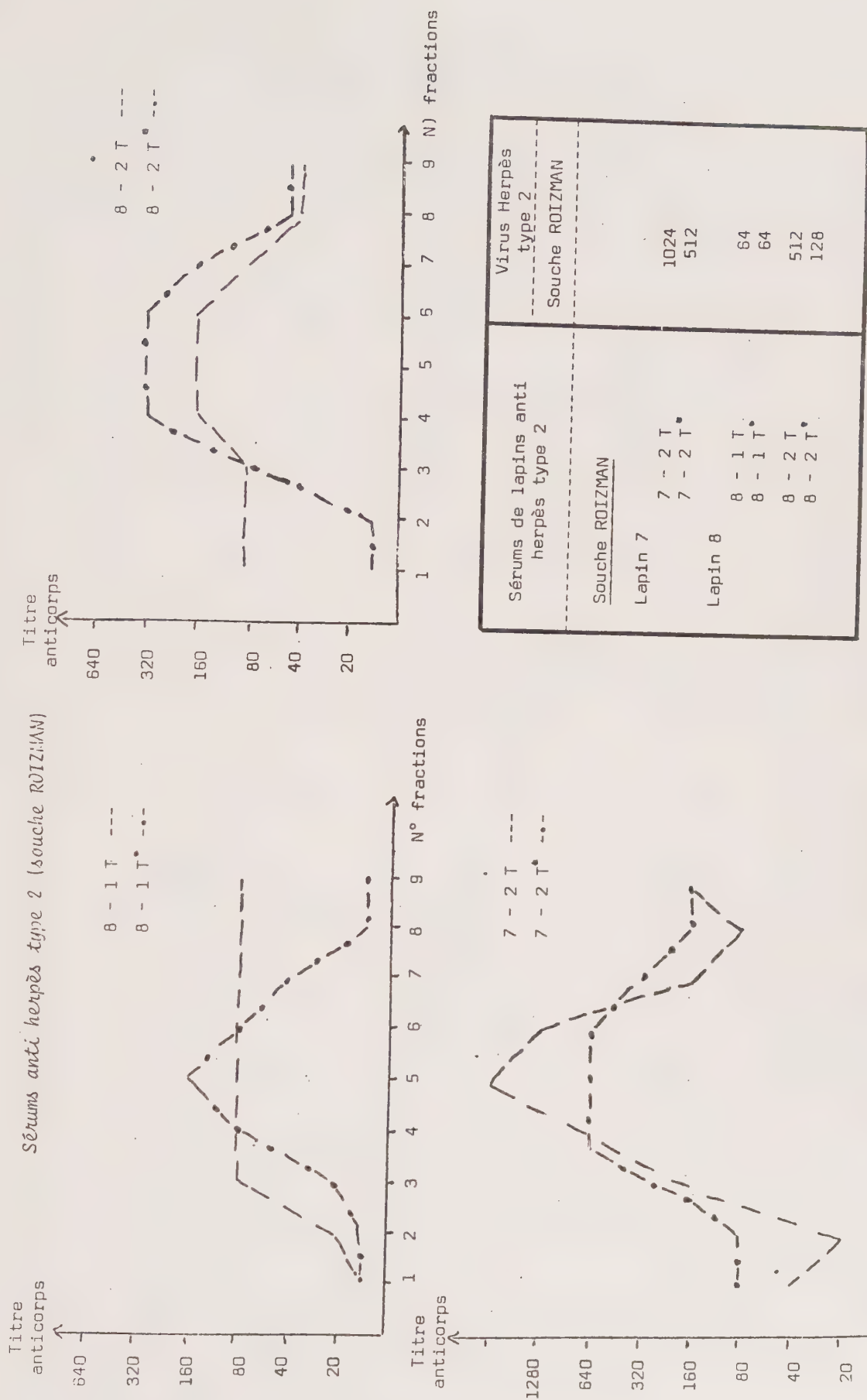
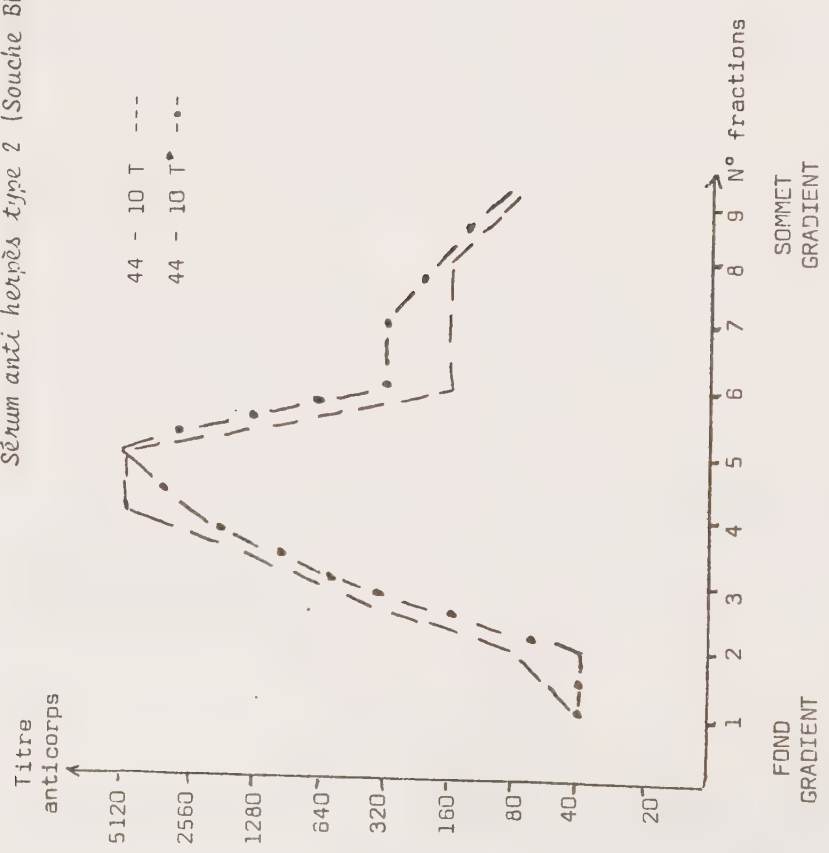


Figure 8 : Recherche des anticorps homologues par hémagglutination passive et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13

Sérum anti herpès type 2 (Souche BENFIELD)



Sérum de lapin anti herpès type 2	Virus Herpès type 2
<u>Souche BENFIELD</u> Lapin 159	Souche BENFIELD
44 - 10 T 44 - 10 T*	4026 2048

COURBE DE CONCENTRATION PROTEIQUE

Fig. 9 b :

Sérum de lapin anti herpès type 1

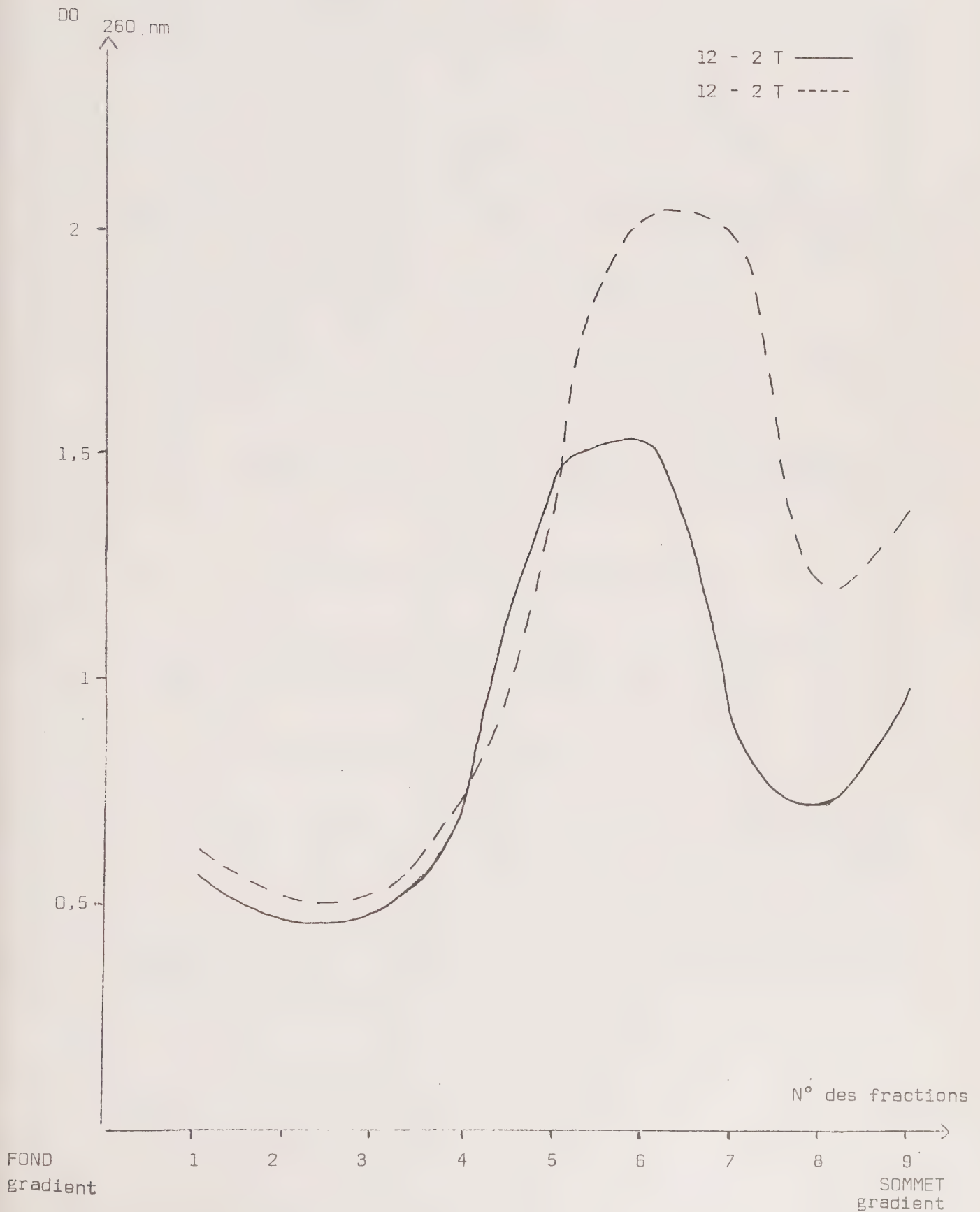
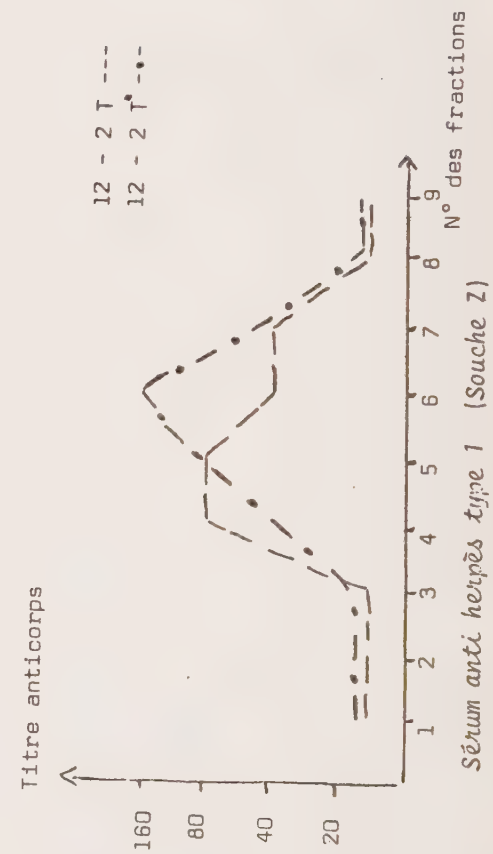
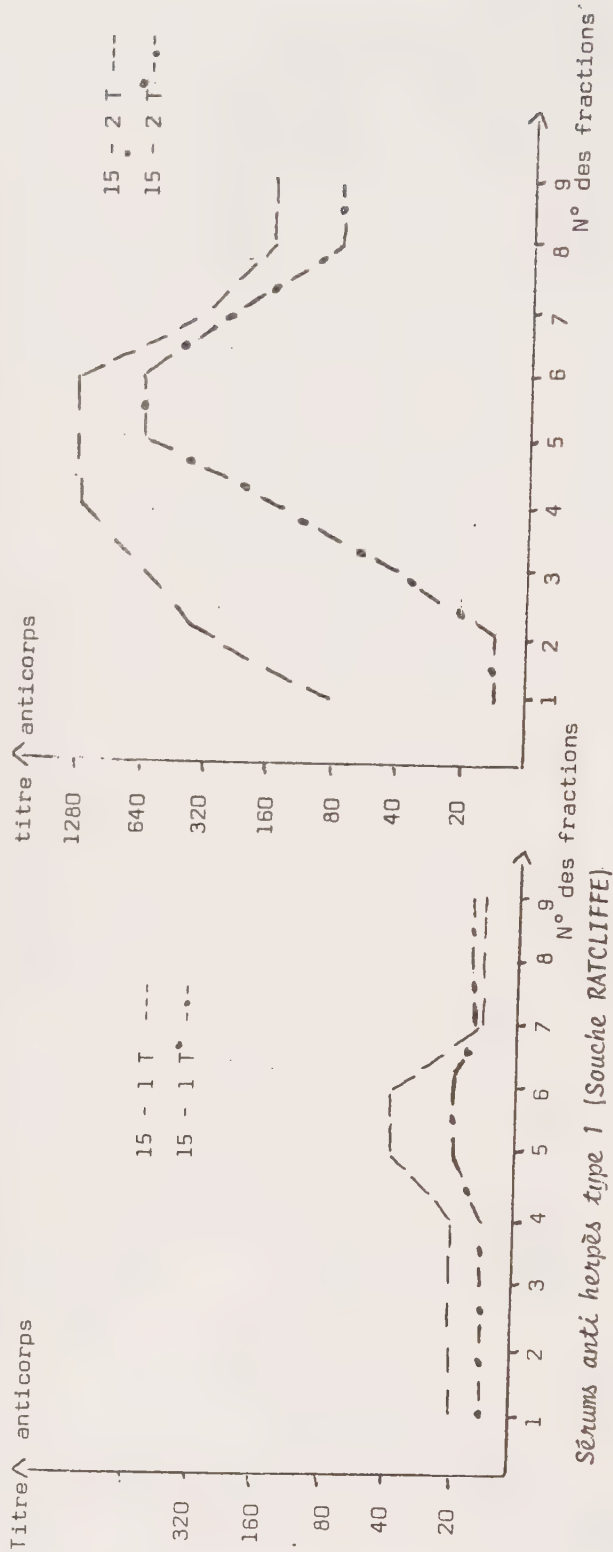


Figure 9a: Détection des anticorps homologues par hémagglutination passive et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13.



Sérums de lapins anti herpès type 1	Virus Herpès type 1	
	Souche Z	Souche RATCLIFFE
Souche Z		
Lapin 12	64	64
12-2 T		
12-2 T		
Souche RATCLIFFE		
Lapin 15		16
15-1 T		16
15-1 T		1024
15-2 T		1024
15-2 T		

té optique dans les fractions 6 - 7 - 8 - 9 mais ne diminue ni le titre du sérum ni le titre des anticorps hémagglutinants dans les fractions 4 - 5 - 6 - 7. (fig. 9b)

L'activité hémagglutinante est localisée aux fractions anticorps 4 - 5 - 6 - 7.

. Sérums anti-herpès type 1 (Souche RATCLIFFE)

Le sérum 15-1, correspondant à l'immunisation simple, possède des anticorps hémagglutinants à titre faible présent dans les fractions 4 - 5 - 6. Le traitement par cellules RK 13 puis hématies tannées élimine l'activité hémagglutinante des fractions lourdes.

Le sérum 15-2, correspondant à une injection de rappel supplémentaire, possède des anticorps hémagglutinants dans toutes les fractions et le pic se situe en 4 - 5 - 6 - 7.

Le traitement par les cellules RK 13 puis les hématies tannées élimine les anticorps portés par les deux premières fractions lourdes.

. Sérum anti-herpès type 1 (Souche ROIZMAN)

Sérum 18-1 traité par hématies à 50 p. 100 ou par cellules RK 13 puis hématies tannées donne des résultats sensiblement identiques : absence d'anticorps dans les fractions lourdes et légères.

. Sérum anti type 1 (Souche BAIN)

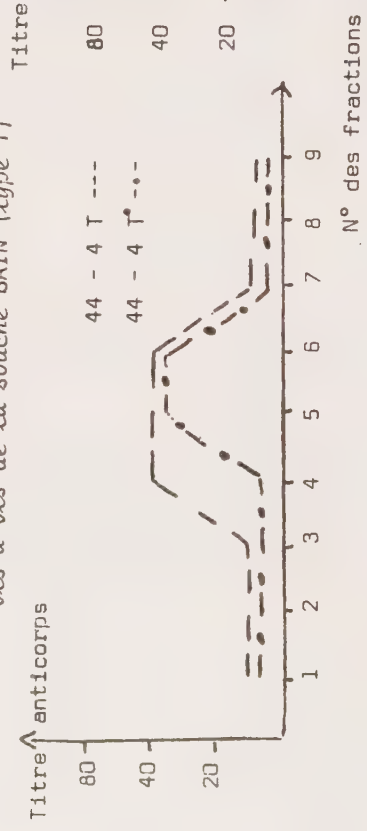
Quel que soit le traitement, le sérum 44-4 possède des anticorps hémagglutinants dans les fractions 4 - 5 - 6 seulement.

Ce sérum, engagé vis-à-vis de la souche RATCLIFFE type 1, possède une activité hémagglutinante "non spécifique" qui disparaît dans les trois premières fractions après traitement par des cellules RK 13 puis des hématies tannées.

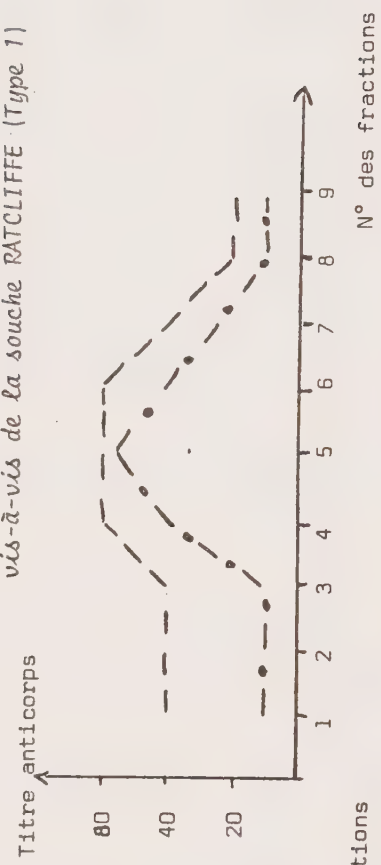
Figure 10 : Détection des anticorps homospécifiques par hémagglutination passive et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13.

Sérum anti herpès type 1 (Souche BAIN)

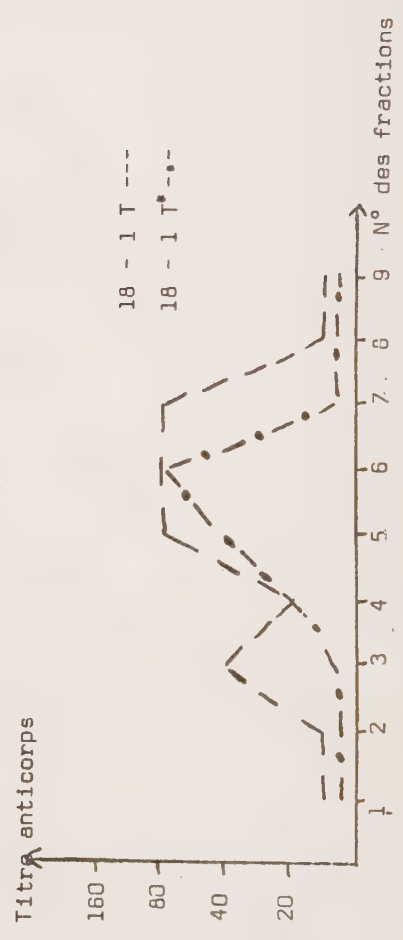
vis-à-vis de la souche BAIN (type 1)



vis-à-vis de la souche RATCLIFFE (Type 1)



Sérum anti herpès type 1 (Souche ROIZMAN)



Sérums de lapins anti herpès type 1	Virus herpès type 1	
	Souche BAIN	Souche ROIZMAN
Souche BAIN	Lapin 153	32
	44-4 T	32
Souche ROIZMAN	Lapin 18	32
	18-1 T	32

En résumé, nous pouvons dire que :

- dans les sérums anti herpès type 1, les immunoglobulines sont, en général, situées dans les fractions 4 - 5 - 6 - 7.
Il n'y a que rarement une activité hémagglutinante dans les fractions lourdes ou légères : dans deux sérums : 15-2 et 44-4 et seulement vis-à-vis de la souche RATCLIFFE type 1.
Ce sont des réactions probablement non spécifiques qui disparaissent par absorption sur cellules RK 13 puis globules rouges tannées.
- l'hémagglutination passive de type 1 est très spécifique et, dans nos expériences, seule la souche RATCLIFFE montre une sensibilité spéciale aux facteurs hémagglutinants non spécifiques.

4 . Recherche des anticorps hétérospécifiques par hémagglutination passive et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13 .

. Sérums anti type 2 (Souche RATCLIFFE) vis-à-vis du virus type 1 (RATCLIFFE)

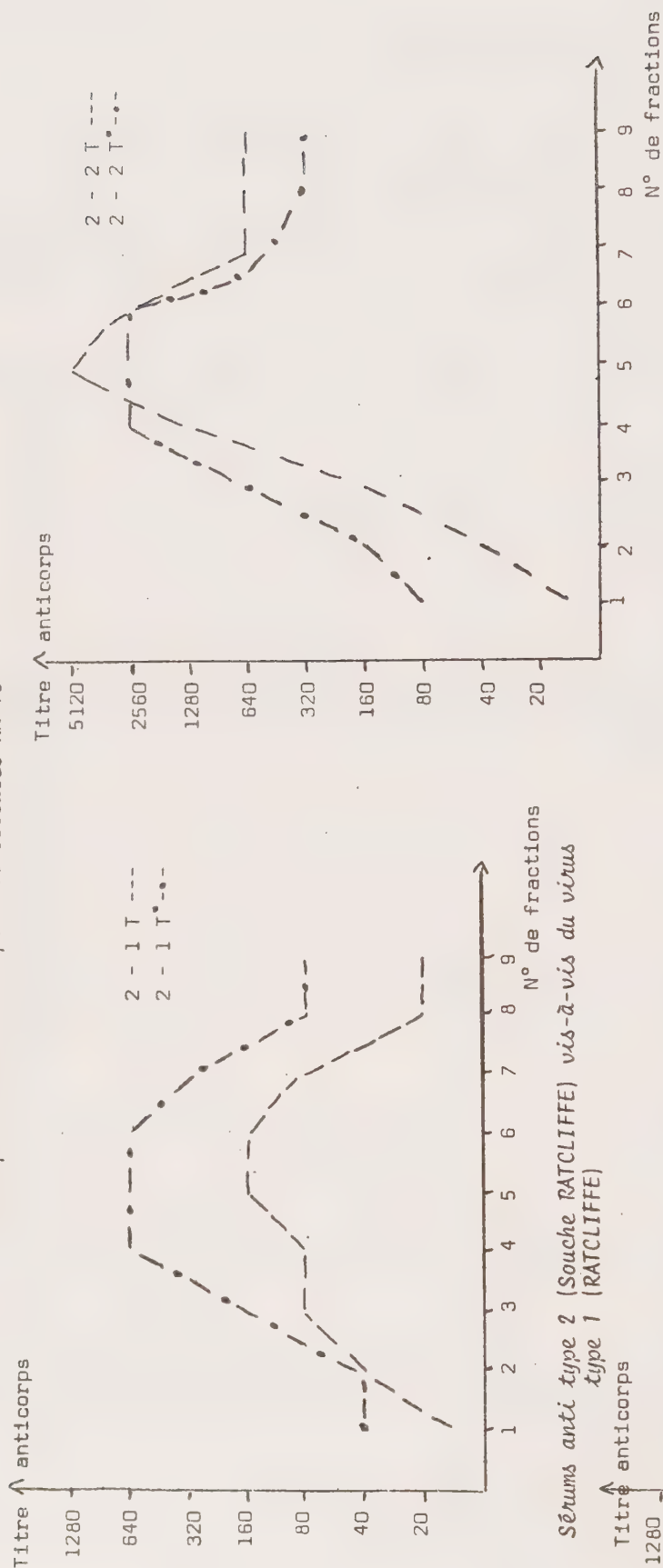
Quel que soit le traitement, et pour les trois sérums, nous obtenons une réponse hémagglutinante sur toutes les fractions avec un maximum sur les fractions 4 - 5 - 6 - 7.

Le traitement par les cellules RK 13 a diminué dans deux cas le titre hémagglutinant de la fraction lourde 1.

. Sérums anti type 2 (Souche ROIZMAN) vis-à-vis du virus type 1 (ROIZMAN)

Les trois sérums traités par hématies à 50 p. 100 ou par cellules RK 13 puis hématies tannées possèdent des anticorps dans toutes les fractions.

Figure 11 : Recherche des anticorps hétérospécifiques par hémagglutination passive et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13

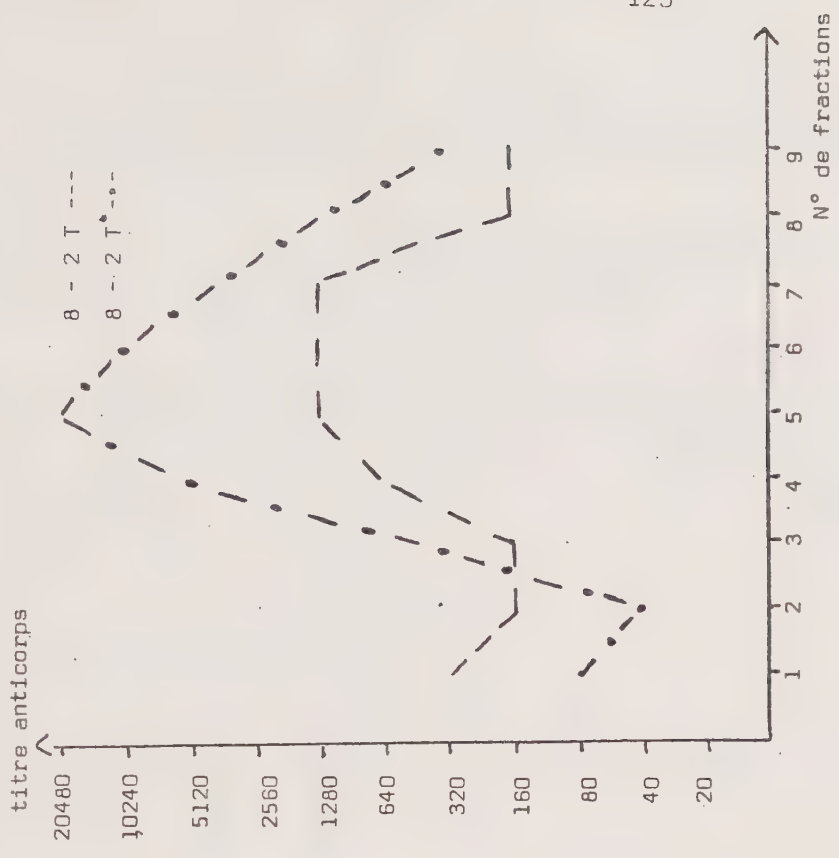
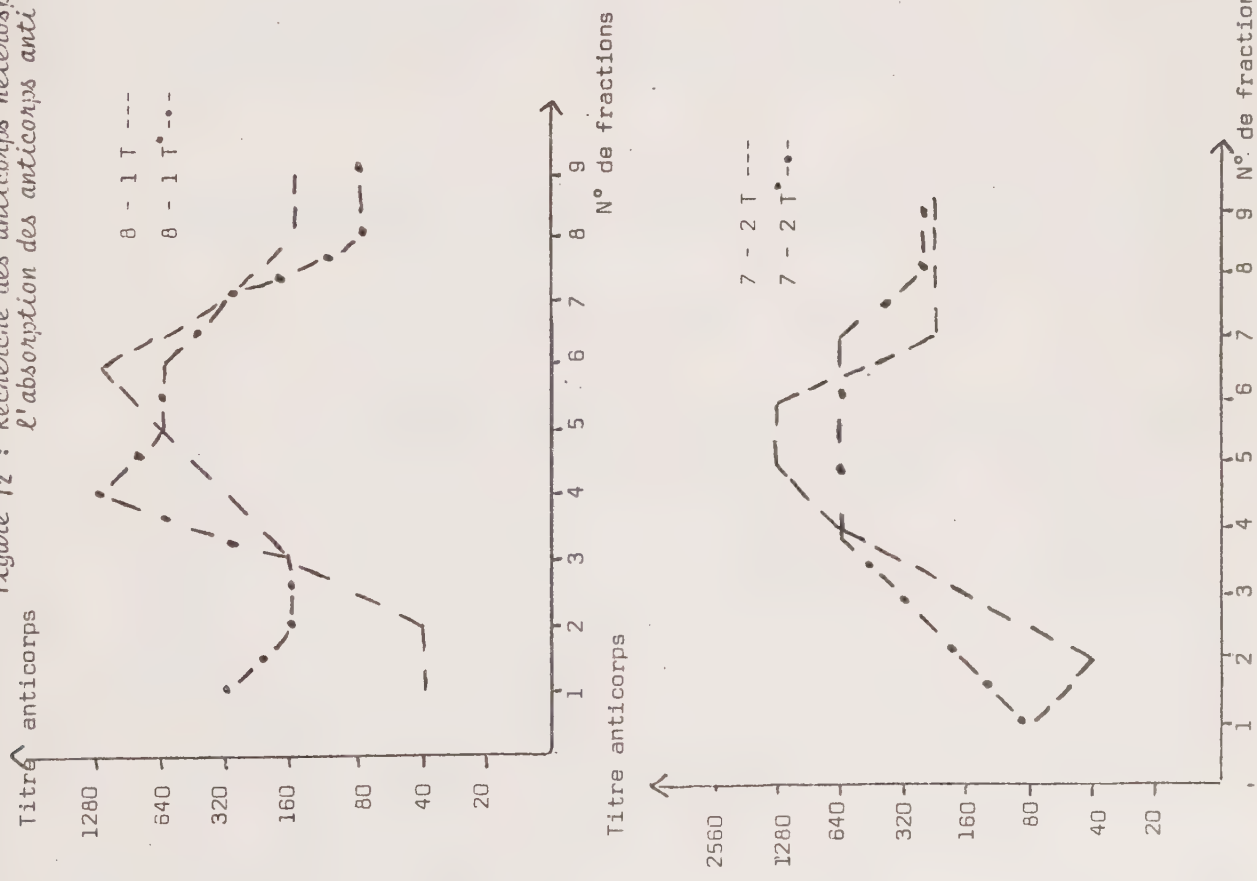


Sérum anti type 2 (Souche RATCLIFFE) vis-à-vis du virus type 1 (RATCLIFFE)



Sérum de lapins anti herpès type 2	Virus herpès RATCLIFFE type 1
<u>Souche RATCLIFFE</u>	
Lapin 2	64
2-1 T	32
2-2 T	4096
2-2 T	1024
Lapin 3	128
3-2 T	128
3-2 T	

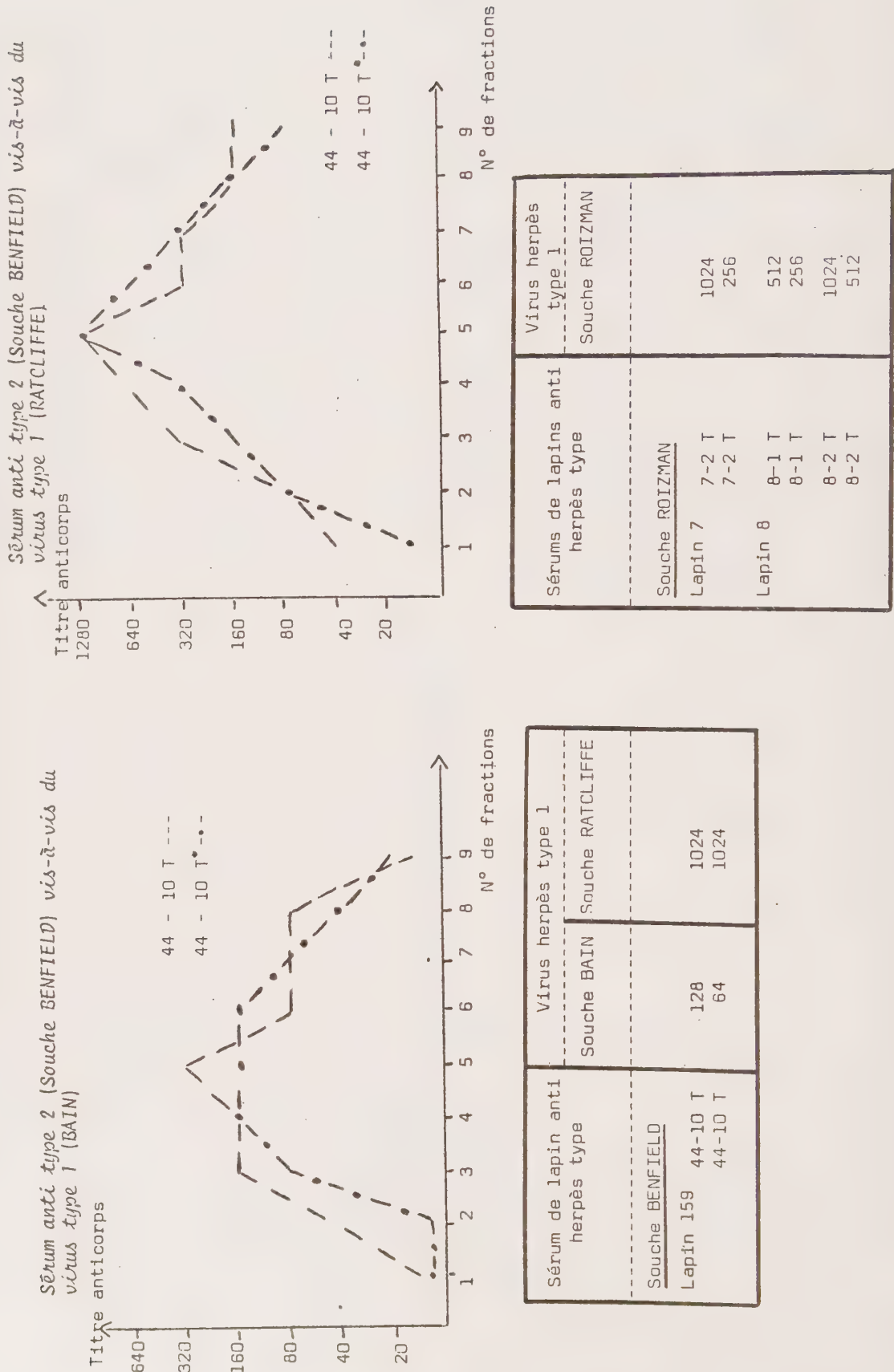
Figure 12 : Recherche des anticorps hétérospécifiques par hémagglutination passive et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13



Sérums anti type 2 (Souche ROIZMAN) vis-à-vis du virus type 1 (ROIZMAN)

Les résultats des traitements des sérums totaux figurent dans la page suivante.

Figure 13: Recherche des anticorps hétérospécifiques par hémagglutination passive et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13.



. Sérum anti type 2 (Souche BENFIELD) vis-à-vis du virus type 1 (BAIN)

Il y a peu ou pas d'activité hémagglutinante dans les fractions lourdes 1 et 2 et légère 9.

Pour le sérum 44-10, le traitement par cellules RK 13 puis hématies tannées élimine l'activité hémagglutinante portée par les fractions 1 et 2 vis-à-vis de la souche BAIN type 1 et de la souche RATCLIFFE type 1.

Ces résultats nous ont permis de constater que dans les sérums anti herpès type 2, les réactions hétérospécifiques anti herpès type 1 sont portées essentiellement par les fractions anticorps 4 - 5 - 6 - 7. Le traitement par les cellules RK 13 a peu ou pas d'action sur les titres hétérospécifiques.

Les souches BAIN et RATCLIFFE sont peu sensibles aux facteurs hémagglutinants non spécifiques qui sont éliminés par absorption sur cellules RK 13.

5 . Effet de l'absorption sur des hématies sensibilisées par les virus herpès types 1 et 2 sur les anticorps hémagglutinants .

a . Sérums anti herpès type 2 (fig. 14)

. Sérum anti type 2 (Souche ROIZMAN) traité par le virus type 2 homologue (ROIZMAN) et par le virus type 1 (ROIZMAN).

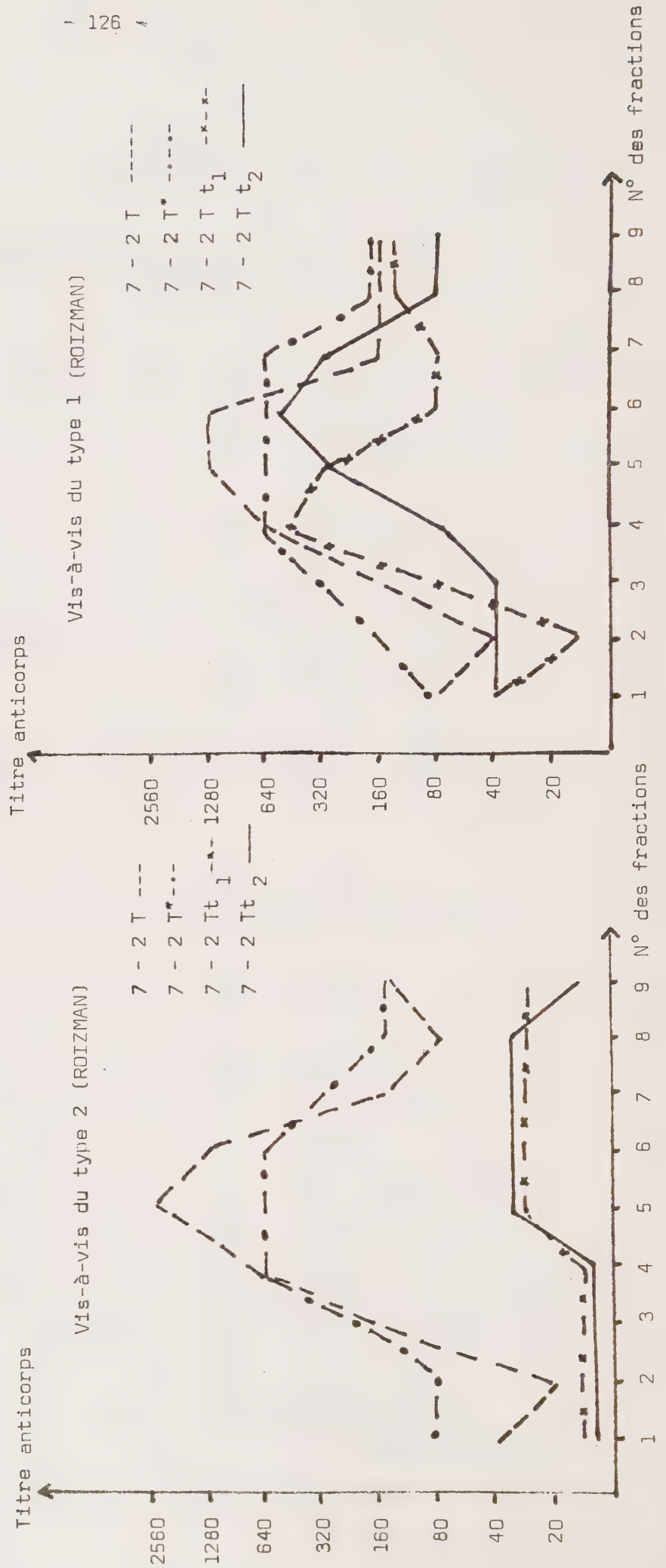
Le traitement par le virus homologue et par le virus type 1 ROIZMAN diminue le titre des anticorps anti herpès type 2 dans le sérum total ainsi que dans toutes les fractions et élimine l'activité hémagglutinante portée par les fractions lourdes ; l'action de ces traitements sur les titres hétérospécifiques anti herpès type 1 est beaucoup moins nette dans les fractions que dans le sérum total.

. Sérum anti type 2 (Souche BENFIELD) traité par le virus type 2 homologue (BENFIELD).

Le traitement par le virus homologue diminue le titre des an-

Figure 14 : Effet de l'absorption sur des héméties sensibilisées par les virus herpès types 1 et 2 sur les anticorps hémagglutinants.

Sérum anti herpès type 2 (souche ROIZMAN)



ticorps anti herpès type 2 dans le sérum total et dans les fractions et élimine l'activité hémagglutinante portée par les fractions lourdes.

Les résultats sont observés lorsqu'on titre les anticorps anti herpès type 2 vis-à-vis de deux souches de virus herpès type 2 (souches BENFIELD et RATCLIFFE) mais les résultats sont plus nets vis-à-vis de la souche homologue BENFIELD.

Le traitement a peu d'action sur les anticorps hétérospécifiques anti herpès type 1 soit dans le sérum total, soit dans les fractions.

En résumé, nous pouvons dire que :

- le traitement de deux sérums anti herpès type 2 par le virus type 2 homologue ou un autre virus type 2 :
 - . diminue le titre homologue du sérum total
 - . diminue le titre homologue sur toutes les fractions et fait disparaître les anticorps hémagglutinants des fractions lourdes (cette diminution est moins nette lorsqu'on titre les anticorps avec un virus herpès type 2 hétérologue)
 - . diminue le titre hétérospécifique du sérum total mais faible diminution des titres des anticorps anti herpès type 1 dans les fractions.
- le traitement d'un sérum anti herpès type 2 par le virus type 1 donne les mêmes résultats que précédemment et diminue le titre des anticorps anti type 1 des fractions 2 - 6 et 7. On note un décalage du pic.

b . Sérums anti herpès type 1

Le traitement par le virus homologue diminue le titre des anticorps dans le sérum total mais peu dans toutes les fractions.

Le traitement par le virus type 2 RATCLIFFE ne retentit pas sur le titre global et n'a pas d'action sur le titre des différentes fractions.

B - REACTION DE NEUTRALISATION ~

1 . Recherche des anticorps homologues et hétérospécifiques par la réaction de neutralisation et effet de l'absorption des anticorps anti cellules RK 13 .

. Deux sérums anti herpès type 2 sont examinés : sérum anti type 2 (Souche ROIZMAN) et sérum anti type 2 (Souche BENFIELD).

Nous remarquons que, comme pour la réaction d'hémagglutination passive :

- les titres neutralisants dans les fractions sont sensiblement proportionnels à ceux obtenus dans le sérum total
- le traitement n'élimine pas les anticorps neutralisants et il n'influe de façon significative, ni sur les titres des sérums avant fractionnement, ni sur ceux des fractions de ces sérums.

Qu'il s'agisse des anticorps homologues ou des anticorps hétérospécifiques, les anticorps anti herpès type 2 sont situés sur toutes les fractions et les anticorps anti herpès type 1 sont localisés aux fractions 4 à 7.

. Deux sérums anti herpès type 1 (Souche RATCLIFFE) ont été examinés.

Il n'y a pas d'activité neutralisante dans les fractions lourdes 1 - 2 ni dans les fractions légères 8 - 9.

L'absorption sur cellules RK 13 n'influe de façon significative sur les titres homologues et hétérospécifiques ni dans le sérum ni dans les fractions.

2 . Effet de l'absorption sur des hématies sensibilisées par les virus herpès types 1 et 2 sur les anticorps neutralisants .

. Un sérum anti herpès type 2 a été examiné.

Le traitement par le virus homologue diminue de deux dilutions le titre du sérum global, mais influe peu sur les titres neutralisants dans les fractions (en général, diminution d'une dilution).

Sur les réactions hétérospécifiques, l'effet est le même que sur les réactions homospécifiques.

. Un sérum anti herpès type 1 a été testé, le traitement par la souche homologue n'a d'effet ni sur les titres homologues, ni sur les titres des anticorps hétérospécifiques que ce soit dans le sérum global ou dans les fractions.

C - MISE EN EVIDENCE DES IMMUNOGLOBULINES DANS LES FRACTIONS DES SERUMS PAR LA TECHNIQUE D'IMMUNODIFFUSION RADIALE -

Nous avons utilisé la technique d'immunodiffusion radiale pour la mise en évidence des immunoglobulines dans les fractions des sérums. Nous avons obtenu un ordre de grandeur de la répartition des immunoglobulines et non un titrage précis.

Cette recherche a été pratiquée à l'aide d'un sérum anti type 1 et d'un sérum anti type 2. Pour chaque sérum, toutes les fractions ont été engagées vis-à-vis de deux immunsérums : anti immunoglobulines totales et anti IgG de lapins.

La mesure du diamètre au carré des anneaux de précipitation obtenue nous a permis de tracer les courbes (fig. n° 15 et 16).

1 . Sérum anti herpès type 2 .

Les fractions des sérums, engagées vis-à-vis des immunoglobulines totales, ont donné les résultats suivants :

. Pour le sérum traité par les hématies à 50 p. 100, nous observons un pic au niveau des fractions 6 - 7 et un au niveau des fractions 4 - 5 - 6.

. Pour le sérum traité par les cellules RK 13 puis hématies

Fig. 15 : Mise en évidence des immunoglobulines dans les réactions des sérums par la technique d'immunodiffusion radiale.

Sérum de lapin anti herpès type 2

T : sérum traité hématies 50 p. 100

T* : sérum traité cellules RI 13 + hématies tannées

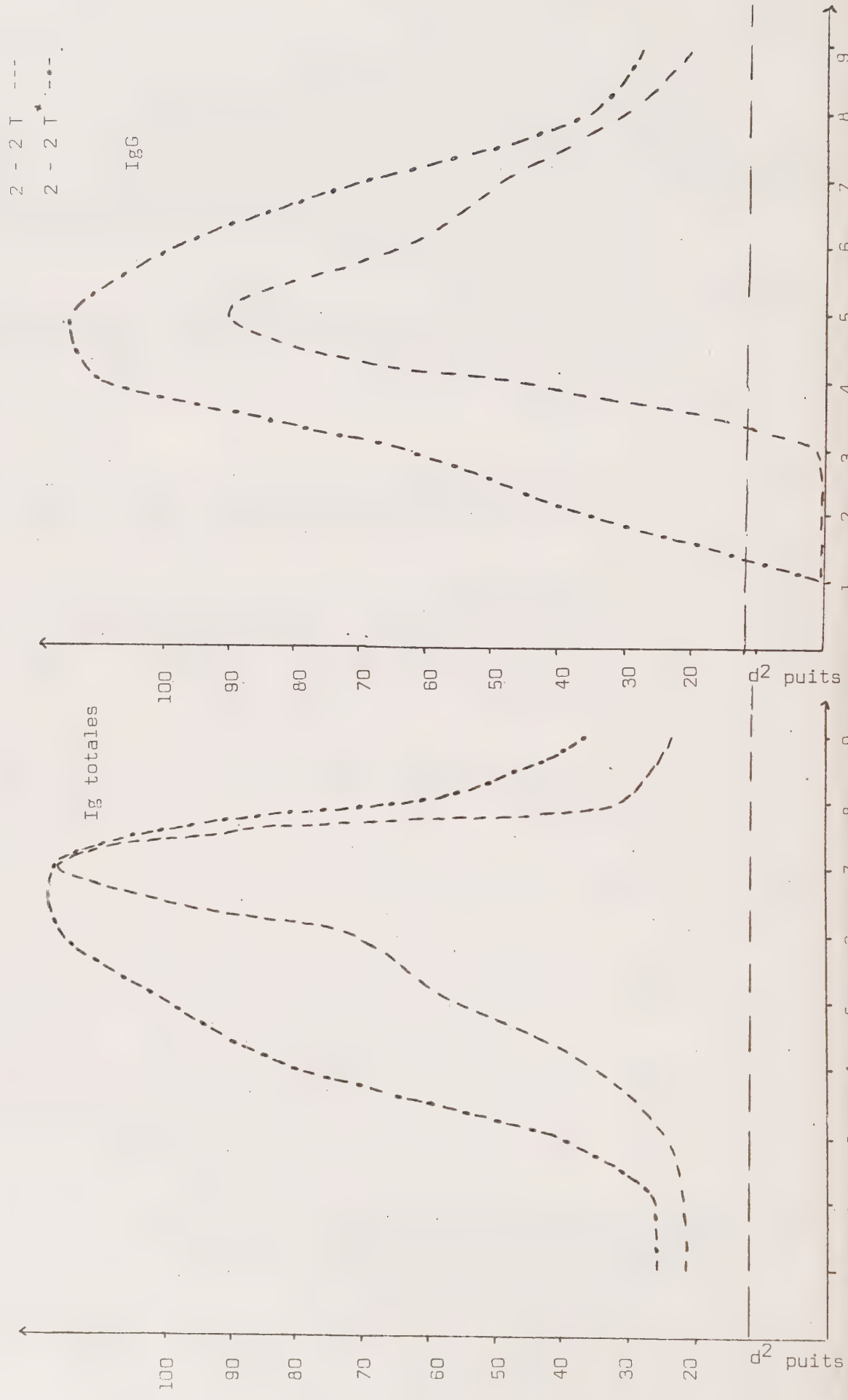
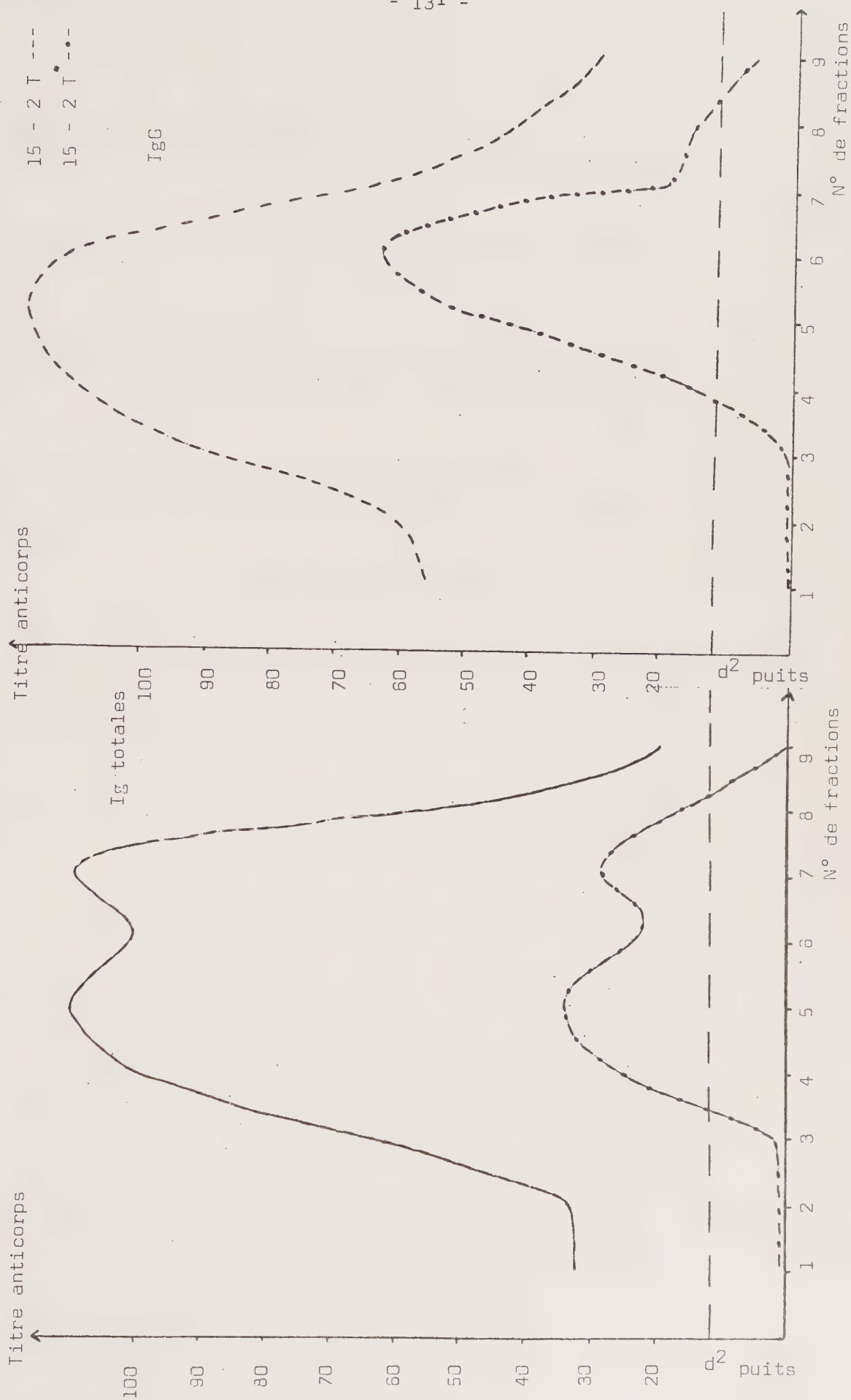


Fig. 16 : Mise en évidence des immunoglobulines dans les fractions des sérums par la technique d'immunodiffusion radiale.

Sérum de lapin anti herpès type 1

T : sérum traité hématies 50 p. 100

T* : sérum traité cellules RK 13 + hématies tannées



tannées, le pic élargi est situé au niveau des fractions 5 - 6 - 7.

Les fractions des sérums, engagés vis-à-vis des immunoglobulines G, montrent que :

- pour le sérum traité par les hématies à 50 p. 100, le pic se retrouve au niveau des fractions 4 - 5 - 6
- pour le sérum traité par les cellules RK 13 puis les hématies tannées, le pic est situé au niveau des fractions 4 - 5 - 6 - 7.

Ces résultats permettent de constater que, pour le sérum anti herpès type 2, les immunoglobulines G sont centrées sur la fraction 5.

2 . Sérum anti herpès type 1 .

Avec les immunoglobulines totales, on observe :

- pour le sérum traité par les hématies à 50 p. 100 : deux pics de même importance, l'un centré sur la fraction 5, l'autre sur la fraction 7
- pour le sérum traité par les cellules RK 13 puis les hématies tannées deux pics au niveau des fractions 4 - 5 - 6 et 6 - 7 - 8.

Avec les immunoglobulines G, on observe :

- pour le sérum traité par les hématies à 50 p. 100 un pic centré sur la fraction 5
- pour le sérum traité par les cellules RK 13 puis les hématies tannées, un pic moyen centré sur les fractions 5 et 6 et un léger épaulement sur les fractions 7 - 8.

Les immunoglobulines G seraient donc situées au niveau des fractions 5 - 6 pour le sérum anti type 1.

Nous avons résumé tous ces résultats dans les figures et tableaux récapitulatifs suivants :

RECAPITULATIF DES RESULTATS

Sérum anti herpès type 2 Titres homologues									
	F R A C T I O N S								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
• <u>Sérum traité hématies 50 p. 100</u>									
Localisation immunoglobulines totales	±	±	±	+	++ Epaule	++	+++ Pic	±	±
Localisation immunoglobulines G	-	-	-	+	++ Pic	++	+ Epaule	+	±
Réaction hémagglutination passive	+	+	++	+++	+++	++	+++ Epaule	++	+
Réaction neutralisation	+	+	++	++ Pic	++	++ Epaule	+	+	+
• <u>Sérum traité cellules RK 13 + hématies tannées</u>									
Localisation immunoglobulines totales	±	±	+	++	++	+++	+++ Pic	++	+
Localisation immunoglobulines G	-	+	++	+++	+++ Pic	+++	++	+	±
Réaction hémagglutination passive	+	+	++	+++	+++ Pic	++	++ Epaule	++	+
Réaction neutralisation	±	±	+	++	++ Pic	++	+	+	+
• <u>Sérum traité virus type 2</u>									
Réaction hémagglutination passive	-	-	+	++	+++ Pic	++	++ Epaule	+	+
Réaction neutralisation	±	±	±	+	++	++	+ Epaule	+	+
• <u>Sérum anti herpès type 2 Titres hétérospécifiques</u>									
Réaction hémagglutination passive									
• Sérum traité hématies 50 p. 100	-	+	++	++	++ Pic	+	+ Epaule	+	-
• Sérum traité cellules RK 13 + hématies tannées	-	-	++	++	++	+	+	±	-
• Sérum traité virus type 2	-	-	-	+	++	++	+	±	-
Réaction neutralisation									
• Sérum traité hématies à 50 p. 100	-	-	-	+	++ Pic	±	± Epaule	-	-
• Sérum traité cellules RK 13 + hématies tannées	-	-	-	-	+	+	±	-	-
• Sérum traité virus type 2	-	-	-	-	-	+ Pic	-	-	-

On affecte conventionnellement les réactions des signes :

Hémagglutination passive et neutralisation

Titre < 20 -
> 20 ±
> 40 +
> 160 ++
> 1280 +++

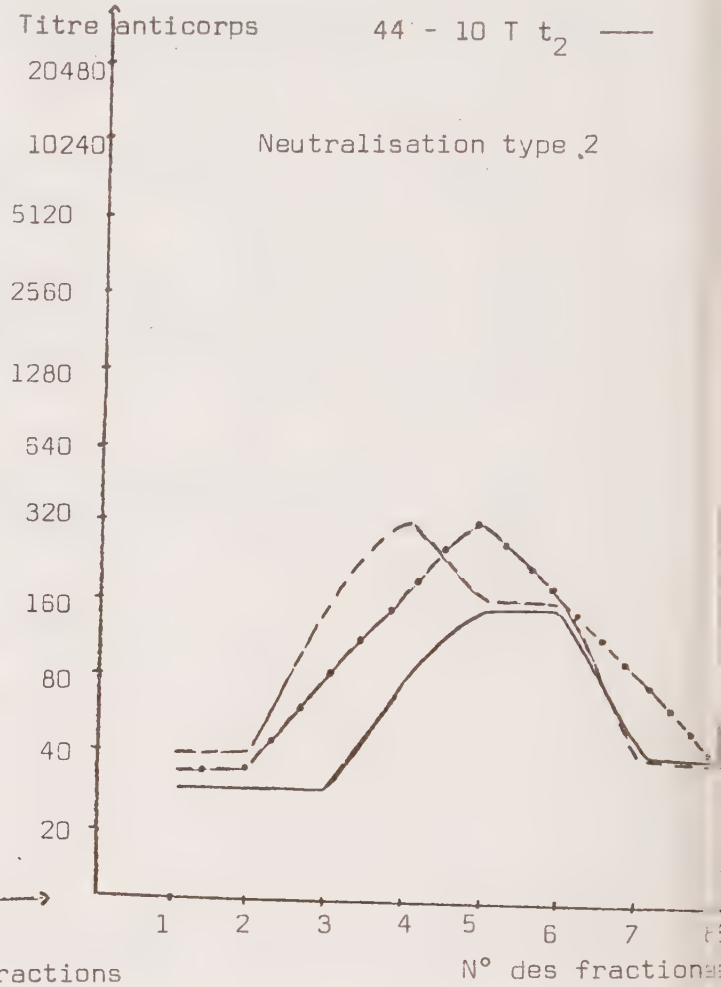
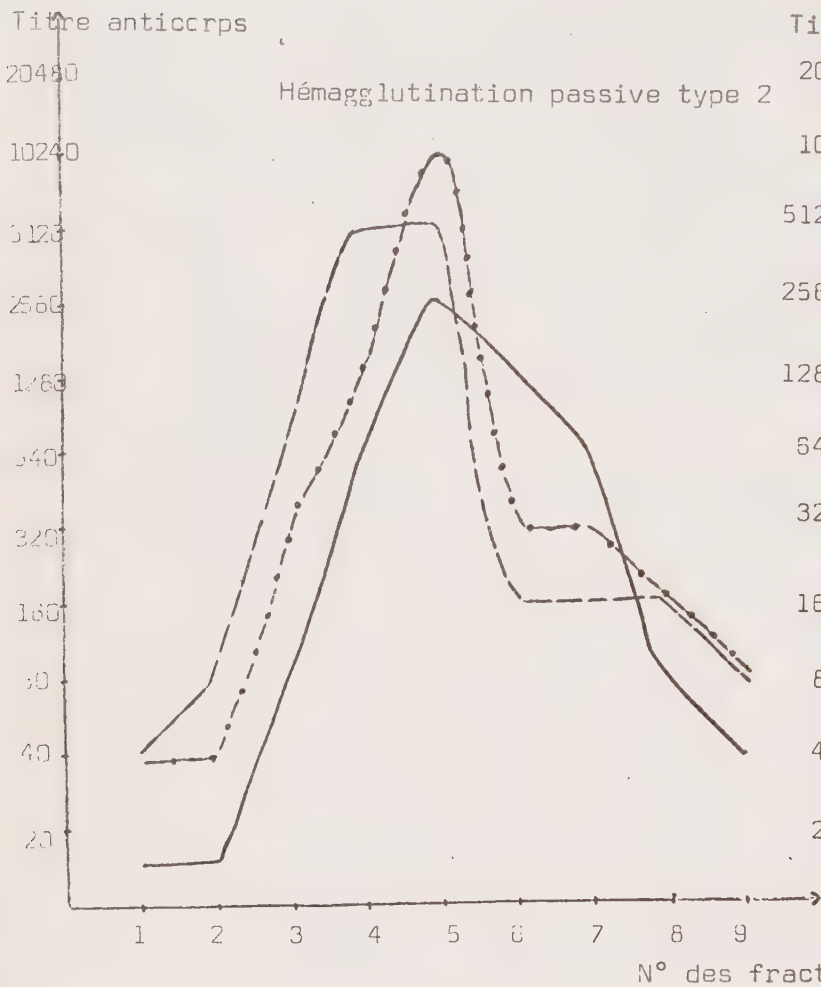
Immunodiffusion radiale
D² anneaux précipitation

< 10 -
> 10 ±
> 30 +
> 50 ++
> 100 +++

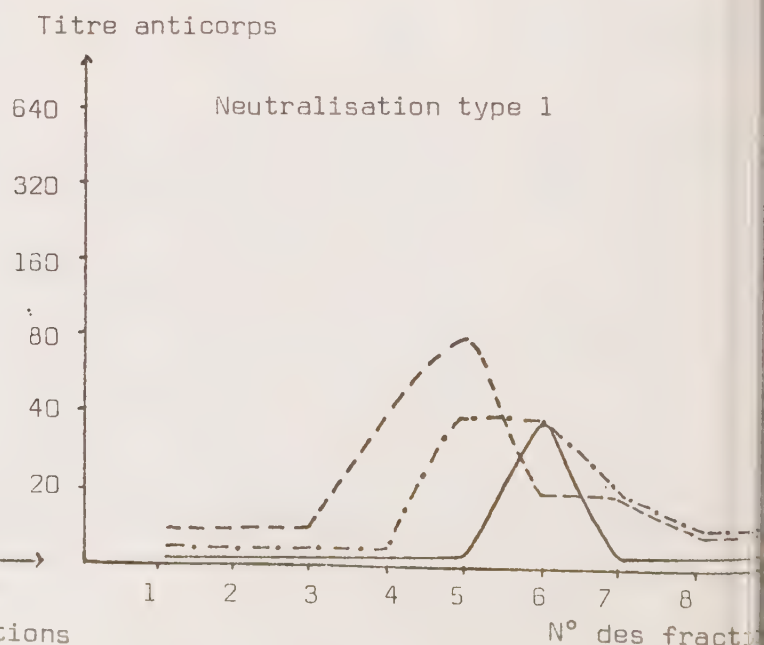
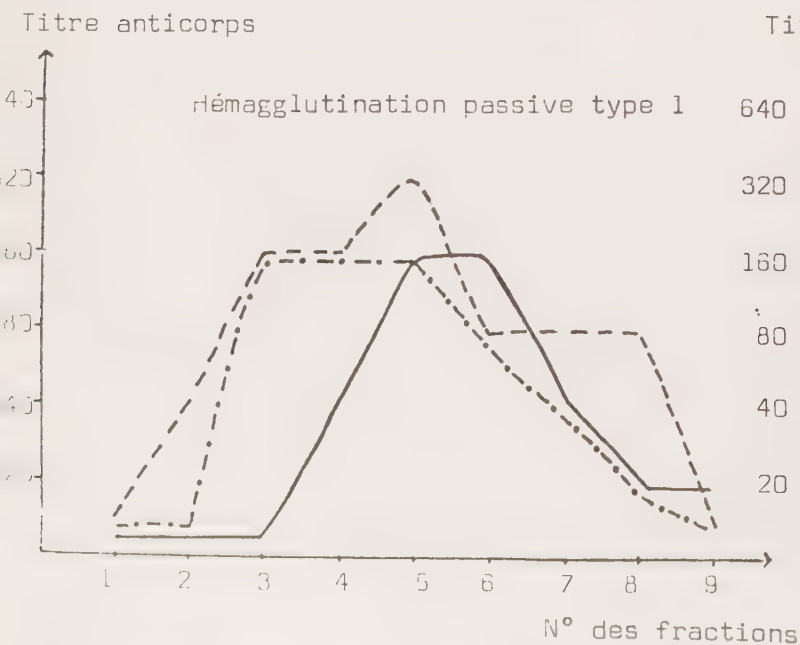
Figure 17 : Détection des anticorps hémagglutinants et neutralisants anti herpès types 1 et 2 dans les fractions de sérum non absorbé, absorbé sur cellules RK 13 et absorbé sur les hématies tannées sensibilisées par le virus herpès type 2.

Sérum anti herpès type 2 (Souche BENFIELD)

vis-à-vis du virus herpès type 2 (BENFIELD)



vis-à-vis du virus herpès type 1 (Souche BAIN)



RECAPITULATIF DES RESULTATS

Sérum anti herpès type 1 Titres homologues									
FRACTIONS									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
• <u>Sérum traité hématies 50 p. 100</u>									
Localisation immunoglobulines totales	+	+	++	++	+++ Pic	++	+++ Pic	+	+
Localisation immunoglobulines G	++	++	++	+++	+++ Pic	+++	++	+	±
Réaction hémagglutination passive	+	++	++	++	+++	+++	++	++	++
Réaction neutralisation	±	-	+	++ Pic	+	+ Epaule	-	-	-
• <u>Sérum traité cellules RK 13 + hématies tannées</u>									
Localisation immunoglobulines totales	-	-	-	±	± Pic	±	+ Pic	±	-
Localisation immunoglobulines G	-	-	-	±	+	+++	± Epaule	±	-
Réaction hémagglutination passive	-	-	+	++	++	++	++	+	+
Réaction neutralisation	-	-	-	-	+	+	-	-	-
• <u>Sérum traité virus type 1</u>									
Réaction hémagglutination passive	-	+	++	++	++	++	++	+	+
Réaction neutralisation	-	-	+	+	+	± Pic	+	-	-
• <u>Sérum traité virus type 2</u>									
Réaction hémagglutination passive	-	+	++	+++	+++	+++	++	++	++
Réaction neutralisation	-	-	+	+ Pic	+	+ Epaule	-	-	-
Sérum anti herpès type 1 Titres hétérospécifiques									
Réaction neutralisation									
• <u>Sérum traité hématies 50 p. 100</u>	+	-	+	+	+	+	-	-	-
• <u>Sérum traité cellules RK 13 + hématies tannées</u>	+	+	+	±	+	+	+	-	-
• <u>Sérum traité virus type 1</u>	+	+	+	+	+	± Pic	+	±	±
• <u>Sérum traité virus type 2</u>	+	±	±	+	+	+	-	-	-

On affecte conventionnellement les réactions des signes :
Hémagglutination passive et neutralisation

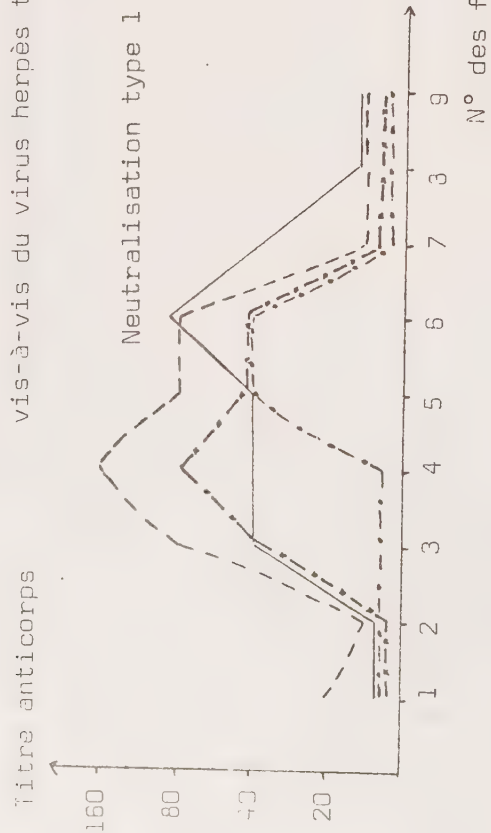
Titre	< 20	-	-
> 20	±	±	±
> 40	+	+	+
> 160	++	> 50	++
> 1280	+++	> 100	+++

Immunodiffusion radiale
D² anneaux précipitation

Figure 18 : Détection des anticorps hémagglutinants et neutralisants anti herpès types 1 et 2 dans les fractions de sérum non absorbé, absorbé sur cellules RK 13 et absorbé sur des hématies tannées sensibilisées par les virus herpès type 1 et type 2.

Sérum anti herpès type 1 (Souche RATCLIFFE)

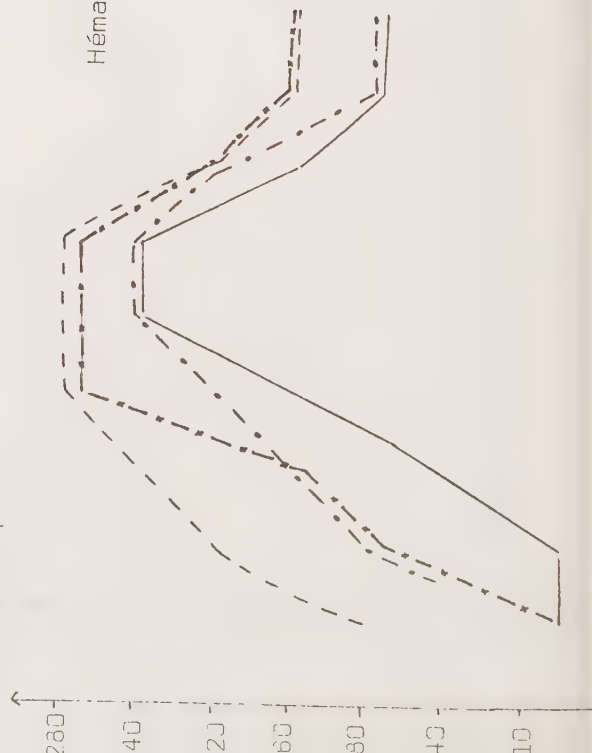
vis-à-vis du virus herpès type 1 (RATCLIFFE)



15 - 2 T ---
15 - 2 T' ---
15 - 2 T t₁
15 - 2 T t₂ -x-

Titre anticorps

Hémagglutination passive type 1



vis-à-vis du virus herpès type 2 (RATCLIFFE)

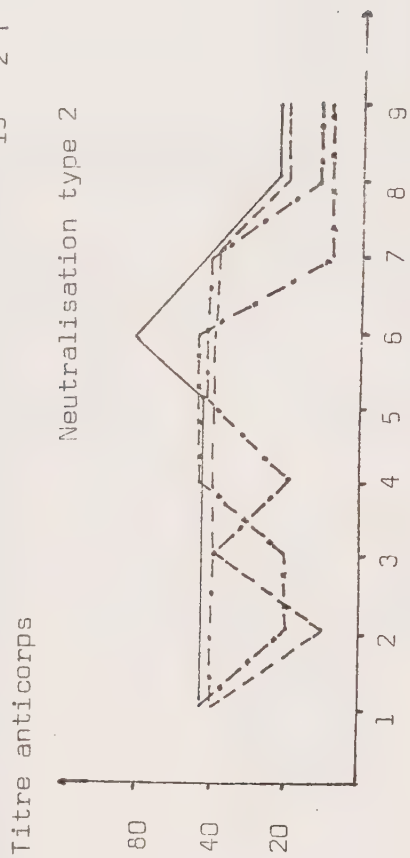


Fig. 17 : T t₂ = sérum traité hématies tannées sensibilisées par le virus herpès type 2 (BENFIELD)

Fig. 18 : T = sérum traité hématies 50 p. 100

T = sérum traité cellules RK 13 + hématies tannées

T t₁ = sérum traité hématies tannées sensibilisées par le virus herpès type 1 (RATCLIFFE)

T t₂ = sérum traité hématies tannées sensibilisées par le virus herpès type 2 (RATCLIFFE)

Ces tableaux représentent les résultats obtenus avec les fractions des sérums :

- anti herpès type 2 (Souche BENFIELD)

les titres des anticorps hétérospécifiques étant détectés vis-à-vis de la souche BAIN type 1.

- anti herpès type 1 (Souche RATCLIFFE)

les titres des anticorps hétérospécifiques étant détectés vis-à-vis de la souche RATCLIFFE type 2.

. Sérum anti herpès type 2 .

1 . Réactions homologues .

a - Fractions 1 et 2 : il s'agit des fractions qui contiennent les immunoglobulines les plus lourdes ou les agrégats d'immunoglobulines légères. Il ne nous a pas été possible de mettre en évidence l'existence d'immunoglobulines M (IgM) dans ces fractions parce que nous ne disposions pas de sérum anti IgM de lapins.

Les titres des anticorps hémagglutinants et neutralisants dans ces fractions étant très faibles, il est difficile d'interpréter les résultats.

b - Fractions 3 et 4 : les titres des anticorps hémagglutinants et neutralisants de ces fractions sont élevés mais nous ne pouvons pas affirmer que cela est dû à la présence d'immunoglobulines G (IgG). En effet, nous observons l'absence d'IgG dans la fraction 3 et une quantité assez faible dans la fraction 4. Il est possible qu'il s'agisse d'agrégats d'IgG qui se situent dans cette fraction.

En outre, il est difficile d'expliquer la raison pour laquelle le traitement par les cellules RK 13 met en évidence une quantité plus importante d'Ig totales et IgG dans les fractions.

L'absorption par le virus type 2 homologue laisse un titre hémagglutinant positif mais diminue considérablement le titre neutralisant.

c - Fractions 5 et 6 : elles représentent les IgG. On observe toujours un pic sur la fraction 5.

Ces fractions sont à la fois hémagglutinantes et neutralisantes et le traitement avec le virus herpès type 2 laisse inchangées les activités hémagglutinante et neutralisante.

d - Fraction 7 :

Cette fraction est riche en immunoglobulines, probablement en IgG puisque l'on constate un épaulement sur la figure 15.

Elle est hémagglutinante mais moins neutralisante que la fraction 5. Ces activités hémagglutinante et neutralisante restent inchangées après traitement par le virus herpès type 2 homologue.

e - Fractions 8 et 9 :

Dans ces fractions se situent habituellement les inhibiteurs "non spécifiques". Elles ont des activités hémagglutinante et neutralisante qui diminuent mais ne disparaissent pas par le traitement avec le virus type 2.

2 . Réactions hétérospécifiques .

a - Fractions 1 et 2 : elles ne sont ni neutralisantes ni hémagglutinantes.

b - Fractions 3 et 4 : seule la réaction d'hémagglutination passive fait apparaître une réaction hétérospécifique.

L'hétérospécificité sur la fraction 4 persiste en hémagglutination passive malgré le traitement par le virus type 2.

c - Fractions 5 et 6 : on retrouve une activité hémagglutinante et neutralisante vis-à-vis du type 1.

Le traitement par le type 2 ne fait pas varier les titres hémagglutinants mais fait varier les titres neutralisants, cependant il faut tenir compte des titres très faibles obtenus par la réaction de neutralisation.

d - Fraction 7 :

Les résultats sont analogues à ceux obtenus dans les deux fractions précédentes mais à des titres plus faibles.

e - Fractions 8 et 9 :

Ces fractions ne sont ni hémagglutinantes, ni neutralisantes en réponse hétérospécifique.

. Sérum anti herpès type 1 .

1 . Réactions homologues .

a - Fractions 1 et 2 :

Le traitement par les cellules RK 13 agit sur les titres des anticorps hémagglutinants dans ces deux fractions.

Le traitement par le type 1 ou par le type 2 fait apparaître des anticorps hémagglutinants à des titres très faibles.

b - Fractions 3 et 4 : on observe la présence d'IgG dans ces fractions. Les titres en anticorps hémagglutinants et neutralisants sont positifs. Mais le traitement par les cellules RK 13 fait disparaître les IgG et les anticorps neutralisants mais est sans action sur les anticorps hémagglutinants.

Il peut s'agir d'anticorps qui ne seraient pas des IgG et qui sont hémagglutinants et non neutralisants.

L'absorption par le type 1 homologue et par le type 2 est sans effet sur les titres hémagglutinants ; on observe la présence d'anticorps à des titres très faibles par la réaction de neutralisation.

c - Fractions 5 et 6 :

On observe un pic au niveau de la fraction 5 qui représente les IgG.

Ces fractions sont hémagglutinantes et peu neutralisantes.

Le traitement par les cellules RK 13 ou par les hématies tannées sensibilisées laisse inchangée l'activité hémagglutinante mais la réaction

de neutralisation donne des titres très faibles.

d - Fraction 7 :

Cette fraction est riche probablement en IgG puisque l'on observe un épaulement sur la figure 16.

Elle est hémagglutinante mais non neutralisante.

L'absorption par le virus type 1 ou type 2 est sans effet sur les titres hémagglutinants.

e - Fractions 8 et 9 :

On retrouve une activité hémagglutinante mais non neutralisante dans le sérum même après traitement par les cellules RK 13 ou par le virus herpès type 1 ou type 2.

2 . Réaction hétérospécifique .

Quel que soit le traitement, on observe une réaction hétérospécifique neutralisante dans les fractions 1 à 7 à un titre faible.

DISCUSSION

Pour apprécier les valeurs des méthodes immunologiques, il est nécessaire de définir précisément les spécificités antigéniques des souches virales dans le but de préparer des sérums permettant l'identification de nouvelles souches.

I . PREPARATION D'IMMUNISERUMS PERMETTANT LA DIFFERENCIATION DES SOUCHES .

A - VOIE D'IMMUNISATION -

1 . Vingt-quatre lapins ont été immunisés par voie intramusculaire.

Parmi eux : 11 ont reçu une suspension d'herpès virus type 2 cultivé sur cellules RK 13, 11 ont reçu une suspension d'herpès virus type 1 cultivé sur cellules RK 13 et 2 témoins ont reçu une suspension de cellules RK 13 non infectées.

1.1 . Lapins immunisés avec la suspension virale type 2 .

Parmi les 11 lapins inoculés avec les différentes souches d'herpès virus type 2 :

- celui qui avait reçu la souche ROIZMAN est mort
- les trois, immunisés par la souche RATCLIFFE, ont produit seulement des anticorps hémagglutinants
- ceux qui ont été immunisés par les souches ROIZMAN et BENFIELD ont produit à la fois des anticorps hémagglutinants et neutralisants.

Nous constatons un pouvoir pathogène particulier de certaines souches type 2 (infectieuses, non inactivées) pour les lapins. (Souche ROIZMAN).

1.2 . Lapins immunisés avec la suspension virale type 1 .

Parmi les 11 lapins inoculés avec les quatre souches différentes d'herpès type 1 :

- 1 est mort 27 jours après avoir reçu la souche ROIZMAN
- 6 ont produit des anticorps hémagglutinants et neutralisants vis-à-vis

des différents herpès type 1 utilisés

- 1 seul lapin a répondu simplement par la production d'anticorps neutralisants et non hémagglutinants vis-à-vis de la souche Z type 1.

Il s'ensuit donc que, selon les souches et selon les animaux, la qualité hémagglutinante et ou neutralisante des anticorps produits est différente.

Il existe donc une dissociation de ces activités biologiques des anticorps produits. La même observation a été faite pour les animaux immunisés par voie intraveineuse.

2 . Sept lapins ont été immunisés par voie intraveineuse .

Parmi eux : 3 ont reçu une suspension d'herpès virus type 2 cultivé sur cellules RK 13, 3 ont reçu une suspension d'herpès virus type 1 cultivé sur cellules RK 13 et 1 témoin a reçu une suspension de cellules RK 13 non infectées.

Les lapins immunisés avec les souches virales type 2 ont produit des anticorps hémagglutinants et neutralisants alors que les lapins immunisés avec les souches virales type 1 n'ont pas produit d'anticorps décelables.

Quelle que soit la voie d'immunisation, les 3 lapins qui ont reçu la suspension de cellules RK 13 non infectées n'ont pas produit d'anticorps qui aient pu être décelés dans les réactions utilisées (hémagglutination passive et neutralisation). Les sérums provenant de ces lapins nous ont servi de témoins négatifs vis-à-vis des sérums anti virus herpès.

Cependant, les lapins n'ayant pas reçu la même quantité de suspension virale, il est intéressant de considérer la réaction immunologique en fonction de la dose de virus inoculée.

B - DOSE DE VIRUS INOCULEE -

Les souches virales n'ayant pas le même titre infectieux, nous avons cru bon, dans le but d'homogénéiser la réponse immunitaire des lapins, d'inoculer des volumes plus importants pour les souches ayant un plus faible titre infectieux par rapport aux autres.

Pour les souches titrant $10^{3,5}$ à $10^{3,83}$ DICT 50 / 0,05 ml à 3 jours, les lapins ont reçu 5 ml de suspension virale.

Pour les souches titrant $10^{4,78}$ à $10^{5,5}$ DICT 50 / 0,05 ml à 3 jours les lapins ont reçu 1 ml de suspension virale mais dans ce lot, 1 lapin sur 3 a reçu 5 ml.

1 . Les lapins immunisés par voie intramusculaire ont répondu de façon différente en fonction de la quantité de suspension antigénique inoculée.

. Lorsque l'on examine les sérums par la réaction d'hémagglutination passive, on remarque que :

- les lapins immunisés avec 5 ml de suspension virale ont produit des anticorps.

Les titres des sérums obtenus sont équivalents, pour un même lot de lapins immunisés avec un même antigène et avec un même volume.

Une seule exception : les lapins immunisés avec 5 ml de la souche RATCLIFFE type 2 ont réagi différemment ; un lapin a donné des anticorps homologues à un titre beaucoup plus élevé que celui des deux autres lapins.

- les lapins immunisés avec 1 ml de virus n'ont pas produit d'anticorps.

. Les sérums, examinés par la réaction de neutralisation montrent que tous les lapins, immunisés avec 5 ml de virus, ont produit des anticorps. Cependant, dans un cas, un lapin immunisé avec 1 ml de la souche Z type 1 a produit des anticorps.

Il existe des différences de titre d'une souche à l'autre qui ne semblent pas intervenir spécialement dans la réponse anticorps. Il est possible que

le volume joue un rôle par son influence sur le temps d'élimination de l'antigène ou son aptitude à infecter le lapin.

2 . Les lapins immunisés par voie intraveineuse ont produit des anticorps à titre faible quel que soit le volume inoculé. L'administration directe dans le sang a, peut-être, favorisé l'élimination. Il serait intéressant de reconsidérer cette voie d'inoculation avec un virus préparé différemment : virus concentré et purifié par exemple.

Plusieurs méthodes ont été décrites permettant d'obtenir un virus purifié (c'est-à-dire débarrassé des protéines cellulaires) mais aussi permettant de conserver l'intégrité de l'enveloppe très fragile des herpès virus : SPEAR (1972), DUYCKINCK (1973) et VAHLNE (1974).

Au vu des résultats obtenus, nous avons retenu la voie intramusculaire comme voie d'inoculation.

Il était donc intéressant d'obtenir une réponse immunitaire importante dans les sérums de lapins, mais il était aussi indispensable d'avoir des anticorps spécifiques des deux types de virus.

C - CHOIX DE LA SOUCHE LA PLUS IMMUNOGENE ET LA PLUS SPECIFIQUE -

1 . Pour la préparation des sérums anti type 2 .

D'après les résultats obtenus, seule la souche RATCLIFFE type 2 est très immunogène mais non spécifique, on observe à la fois des anticorps hémagglutinants à très haut titre mais aussi des anticorps hétérospécifiques. Pour cette souche, nous avons noté l'absence de production d'anticorps neutralisants.

2 . Pour la préparation des sérums anti type 1 .

La souche RATCLIFFE type 1 est très immunogène : présence d'anticorps hémagglutinants et neutralisants homologues. Elle est très spécifique si on utilise la réaction d'hémagglutination passive, celle de neutralisation fait apparaître une réponse hétéro-spécifique.

Les souches ROIZMAN type 1 et Z type 1 sont peu immunogènes par rapport à la souche RATCLIFFE type 1 mais elles sont spécifiques si on examine les deux réactions (hémagglutination passive et neutralisation).

Il ressort de cette étude que, pour la préparation de sérums de lapins anti herpès types 1 et 2, il faudrait choisir :

- la souche RATCLIFFE type 2, bien qu'elle n'ait réagi qu'en hémagglutination passive
- la souche RATCLIFFE type 1 si on utilise la réaction d'hémagglutination passive
- la souche Z type 1 si on utilise la réaction de neutralisation.

On pourrait éventuellement améliorer les résultats en répétant les injections avec les souches concentrées et purifiées ou en injectant un antigène spécifique de type présent dans l'enveloppe.

COURTNEY (1973) a montré que les glycoprotéines, qui sont responsables de la spécificité immunologique du virus peuvent varier d'une souche à l'autre.

C'est ainsi que POWELL (1974) a préparé des antigènes spécifiques de type en montrant qu'une glycoprotéine spécifique du type est présente dans l'enveloppe du virus herpès et réagit avec un anticorps neutralisant.

Dans le but d'obtenir des sérums spécifiques, JEANSSON (1974) a montré que l'administration passive d'anticorps hétérologues à des cobayes infectés par l'herpès virus type 1 ou type 2 permettait la production d'antisérums de spécificité accrue.

Il convient donc de choisir la souche d'immunisation et la voie d'inoculation en fonction de la réaction immunologique (hémagglutination passive ou neutralisation) que l'on veut utiliser.

II . CHOIX DE LA TECHNIQUE PERMETTANT LA DIFFERENCIATION DES SOUCHES .

1 . Comparaison des résultats obtenus en hémagglutination passive et neutralisation .

Tous les sérums ont été engagés dans les réactions d'hémagglutination passive et de neutralisation.

La comparaison des titres hémagglutinants et neutralisants de ces sérums nous permettra d'établir, dans quelle mesure, les résultats peuvent comporter des applications pour l'identification des souches.

Ceux-ci figurent dans les tableaux XXXVI et XXXVII.

a - Sérums anti herpès type 2 -

Pour tous les sérums utilisés, la réaction d'hémagglutination passive est plus sensible que la réaction de neutralisation mais dans les deux cas, nous observons une réponse hétérospécifique.

b - Sérums anti herpès type 1 -

Les sérums anti ROIZMAN type 1 et Z type 1 sont spécifiques en hémagglutination passive et neutralisation ; les sérums anti RATCLIFFE type 1 et BAIN type 1 ne le sont que par la réaction d'hémagglutination passive.

Nous avons résumé ces résultats dans le tableau XXXVIII.

TABLEAU XXXVI
DETECTION DES ANTICORPS HEMAGGLUTINANTS ET NEUTRALISANTS
ANTI HERPES TYPES 1 et 2 CHEZ LES LAPINS IMMUNISES
AVEC LES SOUCHES DE REFERENCE HERPES TYPE 2

	Sérums de lapins anti herpès type 2	NOMBRE DE JOURS APRES		Virus herpès type 1								Virus herpès type 2					
		Immunisation	Rappel	Souche RATCLIFFE		Souche ROIZMAN		Souche Z		Souche BAIN		Souche RATCLIFFE		Souche ROIZMAN		Souche BENFIELD	
				N ₁	HP ₁	N ₁	HP ₁	N ₁	HP ₁	N ₁	HP ₁	N ₂	HP ₂	N ₂	HP ₂	N ₂	HP ₂
Souche RATCLIFFE	Sérums expérimentaux																
	Lapin 1																
	1 (A.I)	0		<8	4	<8	<4	<8	4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	
	1-1	+ 34		<4	<4	<8	<4	<8	4	<4	<4	4	<4	<8	<4	<8	
	1-2	+ 49	(1)+ 15	<4	32	<8	8	<8	4	<4	<4	4	32	<8	64	<8	
	Lapin 2																
	2 (A.I)	0		<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	
	2-1	+ 34		<8	32	<8	16	<8	4	<4	8	<8	32	<8	64	<8	
	2-2	+ 49	(1)+ 15	<8	1024	<8	512	<8	<4	<4	8	<8	2048	<8	4096	<8	10
	2-3	+ 3m 26j		<4	128	<8	128	<8	<4	<4	<4	<4	128	<8	256	<8	
Souche ROIZMAN	Lapin 3																
	3 (A.I)	0		<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	
	3-1	+ 34		8	32	<8	16	<8	16	<4	8	<4	16	<8	32	<8	
	3-2	+ 49	(1)+ 15	<8	128	<8	64	<8	32	<8	32	<8	128	<8	64	<8	
	3-3	+ 3m 26j		<4	64	<8	16	<8	16	<4	16	4	64	<8	32	<8	
	Lapin 7																
	7 (A.I)	0		<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	
	7-1	+ 34		8	256	16	64	32	128	16	32	4	16	8	64	8	
	7-2	+ 49	(1)+ 15	8	512	32	256	32	256	16	64	8	512	32	512	16	
	7-3	+ 3m 26j		8	128	32	256	32	128	16	32	8	128	8	128	8	
Souche BENFIELD	Lapin 8																
	8 (A.I)	0		<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	
	8-1	+ 34		8	1024	16	256	32	512	8	128	4	32	8	64	<8	
	8-2	+ 49	(1)+ 15	16	1024	16	512	32	1024	16	128	8	128	16	128	<8	
	8-3	+ 3m 26j		16	512	16	256	16	512	16	64	16	64	16	64	8	
	Lapin 6																
	6 (A.I)	0		<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	
	6-1	+ 34		8	8	16	<4	16	4	16	<4	8	<4	16	4	16	
	6-2	+ 49	(1)+ 15	8	32	32	16	16	32	8	16	8	4	16	32	32	
	6-3	+ 3m 26j		<8	8	16	16	<8	4	<8	16	<8	4	16	16	<8	
Sérum de référence :	Sérum de lapin anti herpès type 2 de NAHMIAS	Date du sérum de référence : 8. 4.1971		<8	256	8	64	16	64	16	16	32	128	256	512	16	

N₁ = neutralisation type 1

HP₁ = hémagglutination passive type 1

N₂ = neutralisation type 2

HP₂ = hémagglutination passive type 2

A.I = avant immunisation

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'injection de rappel.

TABLEAU XXXVII

DETECTION DES ANTICORPS HEMAGGLUTINANTS ET NEUTRALISANTS
ANTI HERPES TYPES 1 et 2 CHEZ LES LAPINS IMMUNISES
AVEC LES SOUCHES DE REFERENCE HERPES TYPE 1

Sérums de lapins anti herpès type 1	NOMBRE DE JOURS APRES		Virus herpès type 1								Virus herpès type 2					
	Immunisation	Rappel	Souche RATCLIFFE		Souche ROIZMAN		Souche Z		Souche BAIN		Souche RATCLIFFE		Souche ROIZMAN		Souche BENFIELD	
			N ₁	HP ₁	N ₁	HP ₁	N ₁	HP ₁	N ₁	HP ₁	N ₂	HP ₂	N ₂	HP ₂	N ₂	HP ₂
Sérums expérimentaux																
Lapin 15																
15 (A.I)	0		<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4
15-1	+ 34		64	16	64	8	64	<4	64	4	32	<4	32	<4	8	<4
15-2	+ 49	(1)+ 15	32	1024	64	1024	64	1024	32	128	16	<4	16	<4	8	<4
Lapin 17																
17 (A.I)	0		<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4
17-1	+ 34		<8	64	8	32	<8	64	<8	16	<8	<4	<8	<4	<8	<4
17-2	+ 49	(1)+ 15	<8	32	16	32	16	32	32	16	<8	<4	<8	<4	<8	<4
Lapin 18																
18 (A.I)	0		<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4
18-1	+ 34		16	64	16	32	32	8	16	16	<4	<4	<4	<4	<8	<4
18-2	+ 49	(1)+ 15	4	16	<8	8	16	16	<4	4	<4	<4	<4	<4	<8	<4
Lapin 10																
10 (A.I)	0		<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4
10-1	+ 34		8	<4	16	<8	16	<4	8	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4
10-2	+ 49	(1)+ 15	16	<4	16	<4	16	<4	16	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4
10-3	+ 3m 26j		8	<4	8	<4	16	<4	4	<4	<8	<4	<8	<4	<8	<4
Lapin 12																
12 (A.I)	0		<8	16	<8	8	<8	8	<8	<4	<8	<4	<8	8	<8	<4
12-1	+ 34		8	32	16	32	32	64	8	16	<4	<4	<8	<4	<8	<4
12-2	+ 49	(1)+ 15	8	64	32	128	32	64	16	16	4	<4	<8	<4	<8	<4
12-3	+ 3m 26j		8	64	16	32	32	32	8	16	<4	<4	<8	<4	<8	<4
Lapin 152																
44-3	+ 34		8	32	32	16	32	16	16	16	4	<4	32	8	<8	<4
44-6	+ 49	(1)+ 15	16	64	32	32	64	64	32	64	16	<8	32	<4	<8	<4
Lapin 153																
44-4	+ 34		16	32	32	128	64	64	32	32	8	<8	8	<4	<8	<4
44-7	+ 49	(1)+ 15	16	512	64	64	128	256	32	128	16	<8	32	<4	8	<4

N₁ = neutralisation type 1

N₂ = neutralisation type 2

A.I = avant immunisation

HP₁ = hémagglutination passive type 1

HP₂ = hémagglutination passive type 2

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'injection de rappel.

TABLEAU XXXVIII
COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS EN HEMAGGLUTINATION PASSIVE
ET NEUTRALISATION

	HP		N	
	A C Homologues	Réaction hétéro- spécifique	A C Homologues	Réaction hétéro- spécifique
<u>Type 2</u>				
Souche RATCLIFFE	+	+	-	-
Souche ROIZMAN	+	+	+	+
Souche BENFIELD	+	+	+	+
<u>Type 1</u>				
Souche RATCLIFFE	+	-	+	+
Souche ROIZMAN	+	-	+	-
Souche Z	+	-	+	-
Souche BAIN	+	-	+	+

Ces résultats montrent que la réaction d'hémagglutination passive est plus spécifique pour le type 1 que celle de neutralisation : tous les sérums anti type 1 sont spécifiques en hémagglutination passive. On peut donc caractériser facilement les herpès virus type 1 par hémagglutination passive alors qu'il semble plus difficile d'identifier les herpès virus type 2.

2 . Problème des réactions hétérospécifiques .

Pour mieux cerner le problème des réactions hétérospécifiques, nous avons recherché le rôle éventuel des facteurs hémagglutinants non spécifiques du virus herpès.

. Facteurs liés à la réaction elle même .

- L'absorption des sérums sur hématies tannées a éliminé les

anticorps "naturels" anti espèces (c'est-à-dire agglutinines hétéro-spécifiques) anti hématies de mouton.

- Compte tenu des résultats précédemment obtenus, les sérums ont été traités systématiquement par les cellules RK 13 puis hématies tannées. Mais nous avons pu constater que les anticorps anti cellules RK 13, apparus au cours de l'immunisation, n'interviennent pas dans la spécificité ou non spécificité de l'hémagglutination passive vis-à-vis de l'herpès virus type 1 ou type 2.

. Facteurs liés à la qualité des anticorps produits .

Pour essayer d'augmenter la spécificité des sérums, nous les avons traités avec les hématies tannées sensibilisées par le virus type 1 ou type 2. Ce matériel étant très maniable et paraissant particulièrement indiqué dans la réaction d'hémagglutination passive.

. Pour les sérums anti herpès type 2, ce traitement diminue le titre des anticorps hémagglutinants anti type 1 et type 2. Les anticorps produits avaient donc la double spécificité 1 et 2. L'absorption ne permet pas l'amélioration de la spécificité.

. Pour les sérums anti herpès type 1, ce traitement diminue ou négative le titre des anticorps hémagglutinants anti type 1 mais n'influe pas sur les titres des anticorps anti type 2 lorsqu'ils existent. Il y a donc une dissociation dans la réponse. La spécificité type 1 des anticorps hémagglutinants est nettement dominante. L'absorption n'est pas nécessaire : le choix de la souche et l'immunisation de plusieurs animaux permettent d'obtenir des sérums spécifiques de type 1 en hémagglutination passive.

Ce traitement ne réagit pas sur les titres des anticorps neutralisants.

Il y a donc une dissociation des fonctions biologiques hémagglutinantes ou neutralisantes des anticorps circulants des lapins immunisés.

Comme pour la réaction d'héماغglutination passive, le choix des souches et des animaux permet d'obtenir des sérums spécifiques de type 1 en neutralisation.

Certains auteurs ont essayé d'absorber les sérums afin de les rendre plus spécifiques.

ITO (1974) a préparé des sérums monotypiques par absorption appropriée sur les cellules infectées par le type hétérologue.

JEANSSON (1975) a absorbé les sérums anti types 1 et 2 par l'antigène hétérologue fixé sur la glutaraldéhyde polymérisée. Ces sérums absorbés sont plus spécifiques en fixation du complément, neutralisation et immuno-électro-osmophorèse.

SMITH (1976) a absorbé les sérums de lapins, immunisés par voie sous cutanée, avec des lysats de cellules infectées par le virus hétérologue. Les anticorps homospécifiques résiduels sont détectés par la technique de libération du ⁵¹Cr en utilisant des cellules infectées par l'herpès.

Cette absorption des sérums a été aussi utilisée pour le diagnostic indirect : FREYMUTH (1975), étudiant les anticorps anti type 1 et type 2 par la réaction d'héماغglutination passive, a obtenu une différence importante du titre moyen des anticorps anti type 2 entre le groupe de patientes atteintes de cancer du col utérin et les témoins. Cette différence devient très significative si l'on tient compte de l'importance des anticorps communs décelés par absorption sur cellules infectées par le virus herpès type 1.

Les sérums totaux ne différenciant que les virus herpès type 1 des autres, nous avons donc fractionné ces sérums afin de pouvoir localiser les réactions homo et hétérospécifiques en fonction de la localisation des immunoglobulines.

III . COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS EN HEMAGGLUTINATION PASSIVE ET NEUTRALISATION AVEC LES FRACTIONS DES SERUMS .

Nous avons recherché la localisation des anticorps hémagglutinants et neutralisants homospécifiques et hétérospécifiques dans les fractions IgG dans les fractions lourdes des sérums de lapins et leur évolution après absorption sur hématies tannées et sensibilisées par les deux types d'herpès virus.

1 . Réponse immunologique à l'herpès type 2 .

Les anticorps portant l'activité hémagglutinante et neutralisante, vis-à-vis des deux types 1 et 2, sont retrouvés dans l'ensemble des fractions avec un pic dans la région des IgG (fractions 4 - 5 - 6 - 7).

2 . Réponse immunologique à l'herpès type 1 .

Les anticorps portant l'activité hémagglutinante et neutralisante, vis-à-vis du type 1, sont localisés dans les fractions 4 - 5 - 6 en hémagglutination passive et 5 - 6 - 7 en neutralisation.

Les anticorps neutralisants et non hémagglutinants hétérospécifiques (anti herpès type 2) sont distribués dans l'ensemble du gradient.

Les résultats, observés en examinant les figures et les tableaux récapitulatifs, indiquent que nos fractionnements semblent valables. En effet, les IgG sont localisées dans les fractions 5 - 6 - 7 pour l'herpès virus type 1 et type 2.

Cependant, pour le sérum anti type 2 traité par les cellules RK 13, nous observons une augmentation des immunoglobulines totales alors que pour le sérum anti type 1, nous notons une disparition des immunoglobulines totales et des IgG dans les quatre premières fractions.

Nous pouvons supposer l'existence, dans ces sérums anti type 1, d'une grande quantité d'anticorps anti cellules qui serait éliminée par le traitement.

. Réactions homologues .

Les activités hémagglutinante et neutralisante, dans le cas du sérum anti type 2, semblent aller de pair, tandis que pour le sérum anti type 1, nous observons des fractions hémagglutinantes et non neutralisantes.

Le traitement par le type 2 homologue, pour le sérum anti type 2, ne modifie en rien les titres des anticorps hémagglutinants et neutralisants bien que ces derniers soient légèrement diminués.

Nous observons le même phénomène avec le sérum anti type 1 traité par le type 1 homologue.

Le traitement d'un sérum par son virus homologue n'élimine pas tous les anticorps et nous observons que les anticorps restants ont sensiblement la même répartition dans le gradient que dans le sérum non traité par des hématies sensibilisées par le virus.

. Réactions hétérospécifiques .

Dans le cas des réactions hétérospécifiques, nous observons une différence très importante entre les sérums anti type 2 et les sérums anti type 1.

En effet, les anticorps hétérospécifiques des sérums anti type 2, mis en évidence soit par la réaction d'hémagglutination passive, soit par la réaction de neutralisation, se retrouvent dans la région correspondant aux IgG (fractions 5 - 6 - 7) alors que pour le sérum anti type 1, les anticorps hétérospécifiques sont répartis uniformément dans tout le gradient.

Nous n'avons pas mis en évidence de réactions hétérospécifiques avec le sérum anti type 1 par la réaction d'hémagglutination passive.

Il ressort de cette étude que, dans le cas du sérum anti type 1, nous pouvons dissocier les anticorps responsables de l'activité hémagglutinante des anticorps responsables de l'activité neutralisante.

Nous voyons que dans le sérum anti type 1 traité par les cellules RK 13, les fractions 3 - 4, 7 - 8 - 9, sont hémagglutinantes et non neutralisantes.

Ceci est moins évident pour le sérum anti type 2.

Il semblerait donc qu'il y ait des anticorps différents qui supporteraient cette activité hémagglutinante ou neutralisante.

IV . COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS EN HEMAGGLUTINATION PASSIVE,
FIXATION DU COMPLEMENT ET NEUTRALISATION POUR LE SERODIAGNOSTIC
DES INFECTIONS A HERPES TYPES 1 ET 2 .

Nous avons étudié la réaction d'hémagglutination passive dans le but diagnostique d'identifier le type du virus herpès en cause dans l'infection et l'avons comparée à d'autres techniques : fixation du complément et neutralisation.

A - RESULTATS OBTENUS CHEZ LES SUJETS PRESUMES ATTEINTS D'INFECTIONS HERPETIQUES -

Les résultats concernent les cas d'herpès vraisemblablement primaires et les cas d'herpès vraisemblablement récurrents.

1 . Comparaison des résultats des titrages d'anticorps par les trois réactions :

- . Fixation du complément,
- . Neutralisation,
- . Hémagglutination passive,

dans les cas d'herpès vraisemblablement primaires.

Les résultats obtenus en hémagglutination passive prouvent que

- dans les infections orales (stomatite par exemple),
 - . soit il n'y a pas de production d'anticorps décelables
 - . soit il y a production d'anticorps anti type 1
 - . soit il y a production d'anticorps homo et hétérospécifiquesmais les titres des anticorps anti type 1 sont toujours supérieurs aux titres des anticorps anti type 2
- dans le cas d'infection génitale due au type 2, nous observons la production d'anticorps spécifiques anti herpès type 2
- dans les méningites dues au type 2, les anticorps anti herpès type 2 sont spécifiques ; pour celles où le virus n'est pas isolé, le titre des anticorps anti type 2 est supérieur à celui des anticorps anti type 1
- dans les affections exanthématiques, les anticorps hémagglutinants anti type 2 ont un titre plus élevé que les anticorps anti type 1 mais les anticorps neutralisants anti type 2 ont un titre plus faible que les anticorps anti type 1.

Comme le montre le Tableau XXXIX, l'élévation du titre des anticorps a été constatée avec le virus herpès type 2 chez trois patients (VOI..., DOS..., KAR...) et avec le virus herpès type 1 chez trois autres patients (GUS..., ROD..., BOZ...). Pour ces six cas, la réaction de neutralisation ne permet pas l'identification du type du virus en cause et la réaction de fixation du complément a été négative pour deux des cas (DOS..., BOZ...).

Par contre, pour les patients (BAU...) et (LAI...), l'élévation du taux des anticorps a paru spécifique vis-à-vis du type 1 par la réaction de neutralisation et vis-à-vis du type 2 par la réaction d'héماغglutination passive. Le titre des anticorps fixant le complément augmente de façon significative dans les deux cas.

TABLEAU XXXIX

ND	: non donné
FC	: réaction de fixation du complément
N ₁	: réaction de neutralisation type 1
N ₂	: réaction de neutralisation type 2
HP ₁	: réaction d'héماغglutination passive type 1
HP ₂	: réaction d'héماغglutination passive type 2

COMPARAISON DES RESULTATS DES TITRAGES D'ANTICORPS PAR TROIS TECHNIQUES :
FIXATION DU COMPLEMENT - NEUTRALISATION ET HEMAGGLUTINATION PASSIVE

Cas où la réaction d'hémagglutination passive semble spécifique de type

NOM	AGE	ISOLEMENT DU VIRUS		SEROLOGIE							DONNEES CLINIQUES
		NATURE du prélèvement	DATE	DELAI entre le prélève- ment du sé- rum et l'i- solement du virus	Nbre de JOURS après l'apparition des signes cliniques	FC	N ₁	N ₂	HP ₁	HP ₂	
BOZ. F	5a 1m				9 14	0 0	8 128	4 16	8 32	2 8	Stomatite. Aphthose buccale.
BRU. Ch	19a				10 33	< 2 8	4 64	< 2 8	< 4 < 4	32 1024	Syndrome méningé.
DOS. R	21a	pustule vulve	16. 6.71	+ 1 j + 9 j + 1 m	10 18 40	0 0 0	2 32 32	2 32 32	< 4 < 4 < 4	256 1024 128	Herpès vulvaire + Méningite lymphocytaire et infection urinaire
GUS. L	22m	face interne de la joue	7.10.71	0 + 2 j + 15 j	1 3 16	< 8 < 8 64	4 4 256	2 2 16	< 4 < 4 512	< 4 < 4 < 4	Stomatite - Nombreux éléments vésiculeux et labiaux
KAR. V	6a				10 24	< 8 128	4 128	< 2 16	< 4 < 4	< 4 32	Maculo papules rouges sur la langue et le voile du palais
LAI. S	7a 6m				7 12	< 2 16	16 128	4 8	4 8	4 128	Eruptions érythémateuses non prurigineuses - Mollets, face externe des bras.
ROD. L	21m	gorge	ND	-	1 11	< 2 32	4 256	< 2 64	< 4 32	< 4 4	Stomatite vésiculeuse Bronchite.
VOI. A	ND				x x + 13	< 2 16	2 64	2 64	< 4 < 4	32 4096	Syndrome méningé.

L'étude du Tableau XXXX permet de constater que lorsque la réaction d'hémagglutination passive ne paraît pas spécifique et ne permet pas de différencier le type en cause, dans 4 cas sur 6, la réaction de neutralisation ne permet pas non plus le diagnostic de type.

Dans l'un de ces cas (CIA...), la réaction de fixation du complément ne révèle pas d'augmentation du titre des anticorps bien que le deuxième sérum ait été prélevé 32 jours après l'apparition des signes cliniques.

Dans un cas (JUA...), les titres des anticorps neutralisants anti-herpès types 1 et 2 restent inchangés alors que les titres révélés par la réaction de fixation du complément augmentent de façon significative.

Dans le dernier cas (ZAI...), la réaction de neutralisation permettrait de faire le diagnostic de type (Type 1) et la réaction de fixation du complément révèle une augmentation significative du titre des anticorps.

TABLEAU XXXX

COMPARAISON DES RESULTATS DES TITRAGES D'ANTICORPS PAR TROIS TECHNIQUES :
FIXATION DU COMPLEMENT - NEUTRALISATION ET HEMAGGLUTINATION PASSIVE

Cas où la réaction d'hémagglutination passive ne semble pas spécifique de type

NOM	AGE	ISOLEMENT DU VIRUS		SEROLOGIE							DONNEES CLINIQUES
		NATURE du prélèvement	DATE	DELAI entre le prélève- ment du sé- rum et l'i- solement du virus	Nbre de JOURS après l'apparition des signes cliniques	FC	N ₁	N ₂	HP ₁	HP ₂	
CER.F	23a				10 15 19	< 8 128 128	32 2048 2048	8 > 256 > 256	< 4 64 512	< 4 1024 4096	Méningo-encéphalite
CIA.M	2a				6 32	0 0	< 2 64	< 2 16	< 4 64	< 4 16	Rhinopharyngite Stomatite
GOM.J	12a4m				7 14	< 8 32	8 256	4 64	< 8 16	4 16	-
JUA.V	16m				5 17 38 59	< 8 128 64 32	64 64 32 32	4 16 8 8	2 8 4 256	2 < 2 < 2 32	Stomatite herpétique Lésions buccales
LUB.Ch	3a				x x + 19	< 2 8	< 2 128	< 2 16	< 4 256	< 4 32	Crise convulsive hyperthermique
ZAI.N	14m	Gorge	6.10.72	+ 20 j + 24 j	10 44	< 8 64	16 256	2 4	2 16	< 2 32	Stomatite herpétique

FC : Réaction de fixation du complément

N₁ : réaction de neutralisation type 1

N₂ : réaction de neutralisation type 2

HP₁ : réaction d'hémagglutination passive type 1

HP₂ : réaction d'hémagglutination passive type 2

L'étude du Tableau XXXXI permet de constater que la réaction d'héماغglutination passive ne révèle pas la présence d'anticorps mais que :

- Pour 3 cas : BEN..., GIR..., MEN..., la réaction de neutralisation permettrait de faire le diagnostic de type (type 1). La réaction de fixation du complément révèle une augmentation significative du titre des anticorps dans deux des cas seulement.
- Pour 4 cas : KHE D..., KHE R..., REL..., VAL..., la réaction de neutralisation ne semble pas spécifique de type alors que la réaction de fixation du complément révèle une augmentation significative du titre des anticorps.
- Pour 1 cas : MAS..., seule la réaction de fixation du complément est en accord avec l'héماغglutination passive puisqu'elle est négative mais l'intervalle entre les deux prélèvements de sérums est court : 7 jours. Par contre, les anticorps neutralisants augmentent de façon significative vis-à-vis des deux séro-types.

TABLEAU XXXXI

FC	: réaction de fixation du complément
N ₁	: réaction de neutralisation type 1
N ₂	: réaction de neutralisation type 2
HP ₁	: réaction d'héماغglutination passive type 1
HP ₂	: réaction d'héماغglutination passive type 2
ND	: non donné

COMPARAISON DES RESULTATS DES TITRAGES D'ANTICORPS PAR TROIS TECHNIQUES :

FIXATION DU COMPLEMENT - NEUTRALISATION ET HEMAGGLUTINATION PASSIVE

Cas où la réaction d'hémagglutination passive ne révèle pas la présence d'anticorps

NOM	AGE	SEROLOGIE						DONNEES CLINIQUES
		NOMBRE de JOURS après l'appari- tion des signes cliniques	FC	N ₁	N ₂	HP ₁	HP ₂	
BEN. P	3a 6m	5 12	< 2 16	2 16	< 2 < 8	< 2 4	< 2 < 2	Stomatite
GIR. G	ND	10 23	0 0	8 32	4 8	< 4 4	< 4 8	Erosion labiale
GSO. Y	ND	x x + 2	< 8 < 8	2 8	< 8 4	< 4 4	< 4 4	Rhinopharyngite - Amygdalite
KHE. D	3a 6m	24 34 45	< 8 128 64	< 2 64 64	< 2 16 16	< 4 8 8	< 4 < 4 8	Angine ulcéreuse avec points blancs
KHE. R	4a 8m	4 14 25	< 2 16 64	< 4 64 128	< 2 8 8	< 4 < 4 4	< 4 8 8	Angine érythémateuse
MAS. A	18m	4 11	< 8 < 8	4 32	4 32	4 < 4	< 4 < 4	Stomatite
MEN. P	21m	6 33	< 8 32	8 64	NF NF	< 2 4	< 2 2	Amygdalite - Erythème
NAR. F	5a	4 7	0 0	NF NF	NF NF	4 < 4	< 4 < 4	Gingivo-stomatite - Amygda- lite - Adénopathies
REZ. D	16m	7 24	0 64	2 32	< 2 16	< 4 4	4 < 4	Stomatite
VAL. M	12m	6 26	< 8 32	8 256	8 32	< 4 < 4	< 4 < 4	Stomatite - Vésicules

Envisageons maintenant la comparaison des résultats obtenus par les trois réactions (FC - N et HP) pour les cas particuliers et les cas ininterprétables.

CAS PARTICULIERS : Tableau XXXXII

Pour les patients DEN... et FA.RO..., les résultats obtenus par les réactions de fixation du complément et de neutralisation sont en accord avec ceux obtenus par la réaction d'hémagglutination passive :

- Augmentation du titre des anticorps à la suite d'une rougeole ;
- Diminution du titre des anticorps chez un enfant de 19 jours atteint d'hépatite néo-natale.

Pour le patient CHA..., la réaction de neutralisation n'est positive que vis-à-vis du seul type 1 à un titre de 64 pour le premier sérum prélevé 4 jours après l'apparition des signes cliniques. La réaction de fixation du complément est aussi positive à un titre de 32 pour le premier sérum. Il s'agirait probablement d'une stimulation antigénique à la suite du traitement qui peut faire réapparaître l'infection herpétique récurrente.

TABEAU XXXVII
COMPARAISON DES RESULTATS DES TITRAGES D'ANTICORPS PAR TROIS TECHNIQUES :
FIXATION DU COMPLEMENT - NEUTRALISATION ET HEMAGGLUTINATION PASSIVE
Cas particuliers

NOM	AGE	SEROLOGIE						DONNEES CLINIQUES
		NOMBRE de JOURS après l'appari- tion des signes cliniques	FC	N ₁	N ₂	HP ₁	HP ₂	
CHA. M	15a	4	32	64	4	8	128	Péricardite à rechutes Corticothérapie
		19	64	64	8	16	256	
		32	64	128	8	16	512	
		44	32	64	4	32	256	
DEN. V	10a	23	8	16	2	512	256	Rougeole datant de 7 jours Exanthème morbilieux
		41 3 m.	128	256	16	4096	2048	
FA.RO. A	19j	11	8	256	64	64	64	Hépatite néonatale Oedème glossite
		14	< 8	64	16	32	16	
		1m 22j	< 8	16	4	32	32	
		2m 13j	< 8	16	4	8	16	
		6m	0	16	2	4	8	

FC : réaction de fixation du complément

N₁ : réaction de neutralisation type 1

N₂ : réaction de neutralisation type 2

HP₁ : réaction d'hémagglutination passive type 1

HP₂ : réaction d'hémagglutination passive type 2

CAS ININTERPRETABLES : Tableau XXXXIII

Pour tous ces cas, les titres des anticorps anti-virus
herpès types 1 et 2 sont élevés quelle que soit la réaction
utilisée.

COMPARAISON DES RESULTATS DES TITRAGES D'ANTICORPS PAR TROIS TECHNIQUES :
FIXATION DU COMPLEMENT - NEUTRALISATION ET HEMAGGLUTINATION PASSIVE

Cas ininterprétables

NOM	AGE	SEROLOGIE						DONNEES CLINIQUES
		NOMBRE de JOURS après l'appari- tion des signes cliniques	FC	N ₁	N ₂	HP ₁	HP ₂	
ALL. Y	39a	8 21 34	64 32 16	64 64 64	16 16 16	256 512 256	512 256 256	Méningite lymphocytaire
BEN. F	4a	x x + 29	32 64	128 64	NF NF	512 256	4096 1024	Encéphalopathie
BEZ. K	6a	2 18	64 NF	512 512	32 32	2048 2048	1024 512	Syndrome méningé
BON. B	32a	11 21	64 32	256 256	32 64	128 128	256 256	Syndrome méningé
LLO. L	7a	6 27	32 64	256 256	4 64	64 32	8 16	Méningite lymphocytaire
PED. P	9a	5 16 37	32 64 32	256 256 256	64 64 64	256 64 128	256 128 128	Méningo-encéphalite
VUO. C	40a	x x + 16 x + 27	8 16 16	256 256 256	2 8 8	64 128 64	128 128 128	Méningo-uvéïte + Aphthose buccale : Maladie de Behcet

FC : réaction de fixation du complément

HP₁ : réaction d'hémagglutination passive type 1

N₁ : réaction de neutralisation type 1

HP₂ : réaction d'hémagglutination passive type 2

N₂ : réaction de neutralisation type 2

NF : non fait

Nous pouvons conclure qu'après une infection primaire, pour le diagnostic d'une infection humaine, nous n'observons pas d'anticorps décelable dans le sérum précoce en hémagglutination passive (qui est une réaction très sensible) ou en neutralisation.

La réponse humaine

- peut être très retardée,
- est spécifique de type ou d'emblée hétérospécifique,
- est inverse de celle du lapin

puisque l'hémagglutination passive est plus sensible et plus spécifique pour le diagnostic de l'herpès virus type 2.

2 . Comparaison des résultats des titrages d'anticorps par les trois techniques :

- . Fixation du complément,
- . Neutralisation,
- . Hémagglutination passive,

dans les cas d'herpès vraisemblablement récurrents.

Les résultats de l'hémagglutination passive montrent que

- le plus souvent, on n'a pas de variation du titre des anticorps dans 75 p. 100 des cas
- au cours des infections orales, la variation, si elle existe, porte sur l'un ou l'autre type ou sur les deux.

Dans un seul cas d'herpès génital, la réponse est spécifique du type 2.

Dans les méningites et le syndrome de GUILLAIN BARRE, le titre des anticorps anti type 1 est supérieur au titre des anticorps anti type 2.

Dans une encéphalite, c'est l'inverse : titre des anticorps anti type 1 est inférieur à celui des anticorps anti type 2.

. Cas où le titre des anticorps hémagglutinants augmente vis-à-vis d'un seul type : Tableau XXXXIV

Pour le patient : BAL..., atteint d'un syndrome de GUILLAIN-BARRE, les titres des anticorps fixant le complément, neutralisants et hémagglutinants sont très élevés. Peut-être sommes nous en présence d'un cas relevant d'une infection herpétique.

Pour le patient : BAD..., selon que l'on se réfère aux résultats de la réaction d'hémagglutination passive ou de la réaction de neutralisation, l'herpès récurrent serait dû, soit au type 2, soit au type 1. Il est intéressant de noter que ce patient présente une double localisation et on sait que cliniquement, d'après DOWDLE (1967), le type 1 serait responsable des lésions buccales et le type 2 des lésions génitales. Dans ce cas, chacune des réactions confirmerait donc l'observation clinique.

Pour le patient : BER..., les titres des anticorps hémagglutinants augmentent vis-à-vis du seul type 1 alors que les titres des anticorps neutralisants vis-à-vis des types 1 et 2 restent inchangés.

La réaction de fixation du complément révèle une augmentation significative du titre des anticorps.

Pour le patient : BEN..., ce sont les titres des anticorps hémagglutinants anti-type 2 qui augmentent, les titres des anticorps neutralisants vis-à-vis des deux types 1 et 2 et des anticorps fixant le complément ne varient pas.

TABEAU XXXIV

COMPARAISON DES RESULTATS DES TITRAGES D'ANTICORPS PAR LES TROIS REACTIONS :

FIXATION DU COMPLEMENT - NEUTRALISATION - HEMAGGLUTINATION PASSIVE DANS LES CAS D'HERPES RECURRENTS

Cas où le titre d'anticorps hémagglutinants augmente de façon significative vis-à-vis du type 1 ou du type 2

NOM	AGE	SEROLOGIE						DONNEES CLINIQUES
		NOMBRE de JOURS après l'appari- tion des signes cliniques	FC	N ₁	N ₂	HP ₁	HP ₂	
BAL. M	43a	6 27 39	128 128 128	2048 512 1024	16 32 16-32	1024 >4096 >4096	1024 1024 1024	Syndrome de GUILLAIN-BARRE
BAD. A	7a	3 9 32	< 8 128 64	64 512 256	8 16 NF	< 2 4 < 8	64 128 32	Stomatite - Vulvite
BER. M	3a 6m	5 9 23	8 32 32	128 128 128	8 8 8	8 64 64	128 128 128	Stomatite - Rhinopharyngite Angine érythémateuse
BEN. M	5a 10m	3 8	64 64	256 256	16 16	256 512	1024 4096	Amygdalite Pharyngite

FC : réaction de fixation du complément

N₁ : réaction de neutralisation type 1

N₂ : réaction de neutralisation type 2

HP₁ : réaction d'hémagglutination passive type 1

HP₂ : réaction d'hémagglutination passive type 2

. Cas où le titre des anticorps hémagglutinants augmente vis-à-vis des deux types : Tableau XXXXV

Pour le patient : BLO..., la réaction de neutralisation permet de relier l'infection au type 1 confirmant ainsi la clinique, alors que l'on constate une augmentation des anticorps hémagglutinants vis-à-vis des deux types. On observe aussi une élévation du titre des anticorps fixant le complément.

Dans l'ensemble, les résultats des trois réactions (fixation du complément, neutralisation et hémagglutination passive) sont concordants. Toutefois, un sujet sur les 7 conserve un titre élevé et stationnaire en fixation du complément (PER...) et deux sujets sur 7 conservent des titres élevés et stationnaires en neutralisation vis-à-vis des types 1 et 2 (RUI..., PER...).

TABLEAU XXXXV

FC : réaction de fixation du complément
N₁ : réaction de neutralisation type 1
N₂ : réaction de neutralisation type 2
HP₁ : réaction d'hémagglutination passive type 1
HP₂ : réaction d'hémagglutination passive type 2
NF : non fait

TABEAU XXXXV

COMPARAISON DES RESULTATS DES TITRAGES D'ANTICORPS PAR LES TROIS REACTIONS :
FIXATION DU COMPLEMENT - NEUTRALISATION - HEMAGGLUTINATION PASSIVE DANS LES CAS D'HERPES RECURRENTS
Cas où le titre d'anticorps hémagglutinants augmente de façon significative vis-à-vis des 2 types

NOM	AGE	SEROLOGIE						DONNEES CLINIQUES
		NOMBRE de JOURS après l'appari- tion des signes cliniques	FC	N ₁	N ₂	HP ₁	HP ₂	
RUI. S	9a	9	8	256	16	64	16	Sclérose en plaques
		18	16	256	16	64	16	
		28	16	256	16	512	64	
		55	-	256	16	512	128	
BLO. Ch	3a 6m	6	< 2	4	< 2	64	64	Stomatite herpétique Exanthème
		13	32	32	8	32	64	
		57	16	32	8	4	16	
		4m	16	32	8	512	256	
DAO. F	1a 4m	x	16	256	16	16	128	Herpès labial
		x + 8	64	1024	32	128	1024	
HAR. D	21m	7	< 8	16	2	32	16	Aphtes gingivaux
		17	32	32	8	NF	NF	
		76	16	32	16	128	256	
MAT. L	68a	1	0	512	32	256	4	Herpès labial
		18	64	1024	64	1024	32	
MOU. R	40a	17	< 8	32	8	64	32	Méningo-encéphalite herpétique
		29	128	256	32	1024	512	
		43	512	512	32	1024	512	
PER. P	ND	7	32	128	16	256	128	Méningite lymphocytaire Eruption fugace du thorax
		14	32	128	16	512	128	
		18	32	128	32	1024	256	
		24	64	128	32	2048	512	

Nous pouvons conclure de la confrontation des résultats obtenus par les méthodes de neutralisation et d'héماغglutination passive que, dans la plupart des cas, il est possible de préciser du séro-type en cause.

La réaction de neutralisation permet de différencier le type 1 (BEN..., BRU..., GIR..., LAI..., MEN..., ZAI...) tandis que la réaction d'héماغglutination passive distingue mieux le type 2 (BRU..., DOS..., KAR..., LAI..., VOI...).

La réaction d'héماغglutination passive n'apporte pas plus d'informations que la réaction de neutralisation pour le diagnostic de l'herpès dit récurrent.

La confrontation des résultats des trois réactions (fixation du complément, neutralisation et héماغglutination passive) est intéressante pour le diagnostic des herpès récurrents. Si l'on s'en tient, en effet, aux seuls résultats de la fixation du complément, on peut penser qu'il s'agit d'herpès primaire lorsque le titre des anticorps fixant le complément dans le premier sérum dit précoce, est très bas. En fait, il s'agit probablement d'herpès récurrent car les titres en anticorps neutralisants et héماغglutinants de ce premier sérum sont déjà très élevés ainsi qu'en témoignent les cas : BLO..., HAR..., MAT..., MOU....

V . COMPARAISONS DE NOS RESULTATS AVEC LES RESULTATS PUBLIES .

A - RESULTATS OBTENUS CHEZ DES SUJETS INFECTES -

Nous nous proposons de confronter nos résultats obtenus en hémagglutination, fixation du complément et neutralisation avec ceux rapportés par les auteurs qui ont procédé à la même recherche, en tenant compte des techniques qu'ils ont utilisées.

DUDGEON (1950) a obtenu une réaction négative pendant les premiers jours d'évolution de cinq stomatites herpétiques et de quatre maladies de KAPOSÍ, puis une réaction positive à la convalescence.

GAJDUSEK (1952), étudiant 11 gingivo-stomatites et 3 maladies de KAPOSÍ confirme ces données : les anticorps fixant le complément apparaissent au cours de la deuxième semaine d'évolution de toute primo-infection herpétique, parfois plus précocément dès le quatrième jour. Leur titre augmente ensuite, il est maximal (32 - 128) au cours des troisième ou quatrième semaines d'évolution de la maladie, puis diminue jusqu'à une valeur en principe constante, ne variant pas lors des récurrences.

BAYLET (1963), utilisant la réaction de fixation du complément, a étudié 77 sérums provenant de 42 enfants africains présentant une gingivo-stomatite aphteuse et dont les âges s'échelonnaient de 6 mois à 7 ans.

Il a constaté que cette réaction permettait deux fois sur trois de mettre en évidence une augmentation du titre des anticorps et de diagnostiquer la primo-infection herpétique, mais à condition d'avoir un sérum précoce avant le 10ème jour de la maladie, et un tardif après le 11ème jour et même vers le 20ème jour de la maladie.

Dans notre travail, nous avons étudié 39 sérums provenant de 18 patients atteints d'infections herpétiques probablement primaires. Les anticorps fixant le complément apparaissent à partir de la 2ème semaine qui suit l'apparition des signes cliniques mais il

arrive que la réaction soit négative après 40 jours alors que les réactions de neutralisation et d'héماغglutination passive sont positives.

Selon BURNET (1939), au cours d'une primo-infection herpétique, les anticorps neutralisants apparaissent entre le 4ème et le 7ème jour de la maladie, leur titre s'élève ensuite jusqu'à un maximum, atteint vers le début de la 3ème semaine. Il est généralement compris entre 32 et 128. Ce titre se maintient généralement 2 à 3 semaines, puis il baisse jusqu'à un titre variable selon les individus. En cas d'herpès récurrent, ce taux d'anticorps neutralisants peut rester constant ou subir une élévation variable.

Au cours de notre travail, nous avons décelé des anticorps neutralisants vers le 10ème jour, lors des primo-infections herpétiques, leurs titres augmentent vers la 2ème semaine.

Les expériences de JAWETZ (1955) ont montré que l'herpès récurrent ne modifiait pas le titre des anticorps. Par contre, DASCOMB (1955) a observé chez deux patients sur 13 une augmentation faible du titre des anticorps fixant le complément.

Selon ROSS et STEVENSON (1961) on décèle, chez les patients atteints d'herpès récurrent, des anticorps fixant le complément à un titre plus ou moins élevé dès le début de l'infection, ce titre ne se modifiant pas au cours et au décours de celle-ci.

Pour notre part, nous n'avons pas décelé de variations du titre des anticorps fixant le complément lors des récurrences.

D'après SCHMIDT (1961), les anticorps fixant le complément et neutralisants apparaissent à peu près en même temps et suivent une évolution comparable. Toutefois, il semble que les titres des anticorps révélés par la réaction de neutralisation soient plus élevés que ceux révélés par la réaction de fixation du complément.

Il apparaît que nos résultats sont en accord avec ceux de la littérature. On en conclut que :

- les résultats fournis par les deux méthodes - neutralisation et fixation du complément - au cours et au décours de l'infection herpétique primaire évoluent parallèlement ;
- les titres des anticorps neutralisants sont souvent plus élevés que ceux des anticorps fixant le complément.

Seul FUCILLO, en 1970, a étudié les trois réactions : fixation du complément, neutralisation et hémagglutination passive pour identifier le type du virus en cause.

En général, les titres des anticorps hémagglutinants sont 4 à 8 fois plus élevés que ceux obtenus en micro-neutralisation.

La réaction de micro-neutralisation permet d'identifier l'infection due au type 1 dans 9 cas. Pour 8 d'entre eux, la réaction d'hémagglutination passive permet de confirmer ce résultat. Pour le 9ème, la réaction de neutralisation conduirait à conclure qu'il s'agit d'une infection due au type 1 alors qu'il s'agirait d'un type 2 si l'on tient compte de la réaction d'hémagglutination passive.

Enfin, dans un autre cas, il observe une augmentation parallèle des titres d'anticorps vis-à-vis des deux types d'herpès, il s'agirait, pour lui, d'une infection double.

La réaction d'hémagglutination passive serait aussi sensible que la réaction de micro-neutralisation, mais de mise en oeuvre plus rapide et plus économique.

Nos résultats en micro-neutralisation montrent que, dans 6 cas, l'infection primaire était due au type 1, pour 3 d'entre eux, la réaction d'hémagglutination passive est négative, pour 2 autres, l'hémagglutination passive n'est positive qu'au type 2 et, pour le dernier, positive dans les deux types.

Dans 3 autres cas, la micro-neutralisation est positive pour les deux types alors que l'hémagglutination passive n'est positive que pour le type 2.

On confirme donc que la neutralisation est la meilleure

méthode pour faire le diagnostic d'une infection à type 1 et l'hémagglutination passive pour le diagnostic d'une infection à type 2. Il s'ensuit que les anticorps neutralisants et les anticorps décelés en hémagglutination passive sont de spécificité différente.

Il n'est pas possible de préciser si cette différence est due à la nature même des anticorps ou aux modalités techniques de leur mise en évidence (pour la neutralisation, l'antigène est le virus complet infectieux, tandis que pour l'hémagglutination passive, l'antigène est un mélange de virus complet et d'extraits de cellules infectées).

Cependant, d'après les résultats que nous rapportons sur l'immunisation des lapins, il faut peut-être imaginer que l'homme fait une réponse immunologique aussi variable selon les souches et fabrique des anticorps d'activité biologique (hémagglutinante ou neutralisante) dissociée. Il serait intéressant de rechercher, dans un travail ultérieur, la spécificité des anticorps produits chez l'homme vis-à-vis de toutes les souches de référence.

. Les deux réactions (hémagglutination passive et neutralisation) sont parfois en défaut.

Une autre technique a été utilisée pour différencier les deux types d'herpès.

LEINIKKI (1971) a utilisé l'immunofluorescence directe pour titrer les anticorps anti-herpétiques dans les sérums animaux et humains et pour typer les souches d'herpès. Il observe fréquemment des réactions croisées surtout avec le type 1, mais il estime que ce test offre l'avantage d'être rapide et plus sensible que la micro-neutralisation.

KURTZ (1974) a étudié les réponses IgG et IgM dans les infections herpétiques humaines primaires, orales ou génitales, dans les infections récurrentes et dans les encéphalites herpétiques en utilisant les réactions de fixation du complément et d'immunofluorescence

indirecte, sans préciser le type en cause dans l'infection.

Cet auteur montre que les IgM et les IgG apparaissent en même temps lors des infections primaires 6 jours après le début de la maladie - 2 parmi les 9 patients atteints d'infection récurrente avaient des IgM dans leur sérum et 8 patients atteints d'encéphalite herpétique des IgM et des IgG.

La présence d'IgM dans un sérum ne prouve pas qu'il s'agit d'une infection récente.

SCHMIDT (1975) a étudié les anticorps neutralisants (IgM) dans les infections humaines primaires.

Chez les patients infectés avec du type 1, les anticorps neutralisants IgM sont spécifiques de type ; par contre, les patients infectés avec du type 2 ont des anticorps neutralisants IgM homospécifiques et hétérospécifiques.

Les patients infectés par le type 2 et antérieurement infectés par le type 1 possèdent des anticorps neutralisants IgM spécifiques des types 1 et 2.

Il est possible que le virus ne porte pas toute la spécificité de type mais qu'il y ait production dans la cellule de protéines non structurales mais spécifiques.

C'est ainsi qu'AURELIAN (1973) a recherché chez les femmes atteintes de néoplasie du col des anticorps non neutralisants, qui réagissent avec un antigène induit par le virus. Cet antigène AG₄, est un extrait cellulaire préparé 4 heures après l'infection de cellules H ep 2 par l'herpès type 2.

Les résultats ont montré que la présence d'anticorps anti AG₄ semble plus spécifique que celle d'anticorps neutralisant le virus.

La nature de l'AG₄ n'est pas connue, il pourrait être un antigène viral non structural ou un antigène cellulaire induit par le virus.

L'étude des immunoglobulines dans les fractions des sérums animaux a été effectuée ; c'est ainsi qu'en 1975, SHINKAI et coll. ont étudié par fixation du complément et neutralisation les fractions des sérums de lapins et de cobayes. Chez les lapins, les Ig^M apparaissent 2 à 3 semaines après le début de l'immunisation, tandis que les IgG apparaissent après quelques semaines. Chez les cobayes, les IgG apparaissent plus tardivement.

La réaction d'hémagglutination passive paraît intéressante pour identifier les herpès virus isolés lorsque l'on a préparé des immunosérums adéquats : on peut caractériser facilement les herpès virus type 1.

Appliquée au sérodiagnostic des infections herpétiques humaines, cette réaction semble plus sensible que la réaction de fixation du complément et a parfois une spécificité différente de celle de la réaction de neutralisation. Elle semble plus spécifique pour l'herpès virus type 2 que pour l'herpès virus type 1.

La différenciation des types de l'herpès virus varie d'une méthode à l'autre. Il se pourrait que de nombreux herpès virus soient "intermédiaires" entre le type 1 et le type 2 puisque les deux virus sont capables d'avoir des interactions génétiques : TIMBURY (1973) ; BROWN (1975). Cela laisserait supposer l'existence d'un virus "hybride" 1 - 2.

C O N C L U S I O N S

Les virus herpès simplex ont un pouvoir pathogène différent selon leur type antigénique 1 ou 2. Mais les diverses méthodes immunologiques et biologiques proposées pour différencier les herpès virus type 1 des herpès virus type 2 laissent un certain nombre de souches non classées ou "intermédiaires".

- La réaction d'hémagglutination passive a été étudiée : on a mis au point les conditions précises de sa réalisation technique, de sa reproductibilité et de sa spécificité (élimination d'hémagglutination passive non spécifique).

- Pour son application à l'identification des types d'herpès virus, il était indispensable de préparer des immunosérums aussi spécifiques que possible. Quatre souches d'herpès type 1 et trois souches d'herpès type 2, considérées comme souches de référence, ont été utilisées pour la production des immunosérums et pour leur analyse immunologique dans des réactions croisées d'hémagglutination passive et de neutralisation.

- Après immunisation par voie intramusculaire, les lapins produisent des anticorps homospécifiques à titre élevé et seuls les herpès virus type 2 provoquent la formation d'anticorps hétérospécifiques anti herpès type 1 lorsque l'on examine les sérums par la réaction d'hémagglutination passive. La réaction de neutralisation est nettement moins sensible, les réponses hétérospécifiques des lapins apparaissent non seulement après immunisation par l'herpès virus type 2 mais aussi par l'herpès virus type 1. L'immunisation des lapins par voie intraveineuse, ayant entraîné la production d'anticorps à faible titre et souvent des réponses hétérospécifiques, a été abandonnée.

Il convient donc de choisir la souche d'immunisation et la voie d'introduction en fonction de la réaction immunologique (hémagglutination passive ou neutralisation) que l'on veut utiliser.

- Pour mieux cerner le problème des réactions hétérospécifiques, nous avons recherché le rôle éventuel de facteurs hémagglutinants non spécifiques du virus herpès.

Il pouvait s'agir :

- . d'anticorps "naturels" anti-espèces (c'est-à-dire des agglutinines hétérospécifiques). Ces anticorps ont été éliminés par l'absorption des sérums sur hématies tannées.
- . d'anticorps anti-cellules RK 13 apparus au cours de l'immunisation et des injections de rappel : ceux-ci n'interviennent pas dans les réactions d'hémagglutination passive, mais par prudence, les sérums sont traités par les cellules RK 13 puis les hématies tannées et le traitement est actif particulièrement sur les fractions 2 - 3 - 4.
- . de substances agglutinantes non anticorps, équivalentes pour l'hémagglutination passive, des substances inhibitrices non spécifiques intervenant dans les réactions d'inhibition de l'hémagglutination. Elles ne paraissent pas intervenir.

- Nous avons aussi recherché la localisation des anticorps agglutinants et neutralisants homospécifiques et hétérospécifiques dans les fractions IgG et dans les fractions lourdes de sérums de lapins fractionnés par ultra-centrifugation en gradient de saccharose et le devenir de ces anticorps après absorption sur hématies tannées et sensibilisées par les deux types d'herpès. Au cours de la réponse immunologique à l'herpès virus type 2, les anticorps portant à la fois la spécificité type 1 et type 2 et l'activité hémagglutinante et neutralisante sont retrouvés dans l'ensemble du fractionnement avec un pic dans la région des IgG (fractions 5 - 6 - 7).

Au cours de la réponse immunologique à l'herpès virus type 1, les anticorps portant la spécificité sont surtout localisés dans les fractions 4 - 5 - 6 alors que les anticorps hétérospécifiques (anti herpès type 2) sont neutralisants et non hémagglutinants et distribués dans l'ensemble du gradient avec un pic au niveau des IgG (fraction 6).

Il s'ensuit donc que la réponse immunologique en anticorps sériques des lapins est différente pour l'herpès virus type 2 de l'herpès virus type 1 et que l'on peut caractériser facilement par hémagglutination passive les herpès virus type 1.

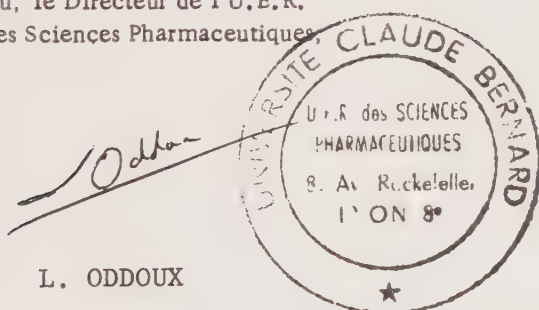
- La réaction d'hémagglutination passive a été appliquée au

diagnostic des infections herpétiques humaines et comparée avec les réactions classiques de fixation du complément et de neutralisation dans le but de déterminer la réponse immunitaire de primo infection ou de réinfection chez des sujets excréant ou n'excrétant pas le virus.

Plus sensible que la réaction de fixation du complément, la réaction d'hémagglutination passive a quelquefois aussi une spécificité différente de celle de la réaction de neutralisation. Mais, à l'inverse de ce qui a été vu chez les lapins, elle a été plus spécifique pour l'herpès virus type 2 que pour l'herpès virus type 1.

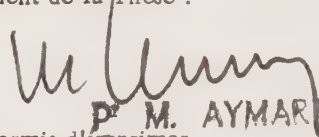
La réaction d'hémagglutination passive paraît donc intéressante pour identifier les herpès virus isolés lorsque l'on a préparé des immun-sérums adéquats, utilisable par sa sensibilité pour déceler la trace sérologique des infections herpétiques mais inutilisable pour faire sérologiquement le diagnostic étiologique du type d'herpès virus infectant.

Vu, le Directeur de l'U.E.R.
des Sciences Pharmaceutiques,



L. ODDOUX

Le Président de la Thèse :


P. M. AYMARD HENRY

Vu et permis d'imprimer
LYON, le 8/12/76

Le Président de l'Université Claude-Bernard,


D. GERMAIN

BIBLIOGRAPHIE

- ADELUSI B., OSUNKOYA B.O. & FABIYI A. - Herpes type 2 virus antigens in human cervical carcinoma. Obst. Gynecol., 1976, 47, 545-548.
- ARTZET F. - Recherche sur les antigènes viraux fixant le complément. Etude des virus herpétiques et poliomyélitiques. Thèse Sciences, Paris, 1961.
- AURELIAN L. - Virions and antigens of herpes virus type 2 in cervical carcinoma. Cancer Res., 1973, 33, 1539-1547.
- AURELIAN L., SCHUMANN B., MARCUS R.L. & DAVIS H.J. - Antibody to HSV-2 induced tumor specific antigen in sera from patients with cervical carcinoma. Science, 1973, 181, 161-164.
- BACK A.F. & SCHMIDT N.J. - Indirect hemagglutinating antibody response to Herpes virus hominis types 1 and 2 in immunized laboratory animals and in natural infections of man. Appl. Microbiol., 1974, 28, 392-399.
- BACK A.F. & SCHMIDT N.J. - Typing Herpes virus hominis antibodies and isolates by inhibition of the indirect hemagglutination reaction. Appl. Microbiol., 1974, 28, 400-405.
- BAYLET R.J., ARMENGAUD M., SCHLUEP P. & GUERIN M. - Contribution à l'étude épidémiologique de l'herpès par la méthode sérologique. Bull. Soc. Méd. Afr. Noire, 1963, 8, 433.
- BENJAMIN D.R. - Rapid typing of Herpes simplex virus strains using the indirect immunoperoxidase method. Appl. Microbiol., 1974, 28, 568-571.

- BERNSTEIN M.T. & STEWART J.A. - Indirect hemagglutination test for detection of antibodies to cytomegalovirus.
Appl. Microbiol., 1971, 21, 81-89.
- BOYDEN S.V. - The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera.
J. Exp. Med., 1951, 93, 107-120.
- BRITTEN R.J. & ROBERTS R.B. - High-resolution density gradient sedimentation analysis.
Science, 1960, 131, 32-33.
- BROWN S.M. & RITCHIE D.A. - Genetic studies with Herpes simplex virus type 1. Analysis of mixed plaque-forming virus and its bearing on genetic recombination.
Virology, 1975, 64, 32-42.
- BROWN S.M. & RITCHIE D.A. - Genetic studies with Herpes simplex virus type 1. Quantitative analysis of the products from two factor crosses.
Virology, 1975, 64, 281-283.
- BURNET F.M. & LUSH D. - Herpes simplex : Studies on the antibody content of human sera.
Lancet, 1939, 1, 629-631.
- COURTNEY R.J. & BENYESH-MELNICK M. - Differential effect of 2-deoxy-D-glucose on glyco-proteins synthesized by Herpes simplex virus types 1 and 2.
Intervirology, 1973, 74, 120-127.
- DAVID D.B., MUNYON W., BUCHSBAUM R. & CHAWDA R. - Virus type-specific thymidine kinase in cells biochemically transformed by Herpes simplex virus types 1 and 2.
J. Virol., 1974, 13, 140-145.
- DENT P.B. & BIENENSTOCK J. - Absence of IgA antibody to Herpesvirus in cervico vaginal secretions of patients with carcinoma of the cervix.
Clin. Immunol. Immunopathol., 1974, 3, 171-177.
- DOERR H.W., RAU M. & SCHMITZ H. - Typing of Herpesvirus simplex hominis 1 and 2 by indirect immunofluorescence.
Med. Mikrob. Immunol., 1974, 159, 137-140.

- DOWDLE W.R., NAHMIAS A.J., HARWELL R.W. & PAULS F.P.-
Association of antigenic type of Herpes virus
hominis with site of viral recovery.
J. Immunol., 1967, 99, 974-980.
- DUDGEON J.A. - A complement fixation test for Herpes
simplex infections.
J. Clin. Pathol., 1950, 3, 239-247.
- DUYCKINCK SMITH J. & DE HARVEN E. - Concentration of
Herpesviruses.
J. Virol., 1973, 11, 325-328.
- FORGHANI B., SCHMIDT N.J. & LENNETTE E.H. - Solid
phase radioimmuno-assay for identification of
Herpesvirus hominis type 1 and 2 from clinical
materials.
Appl. Microbiol., 1974, 28, 661-667.
- FORGHANI B., SCHMIDT N.J. & LENNETTE E.H. - Solid
phase radioimmuno-assay for typing Herpes simplex
viral antibodies in human sera.
J. Clin. Microbiol., 1975, 10, 410-418.
- FRASER C.E., HELENDEZ L.V. & SIMEON E.T.-Specificity differen-
tiation of Herpes simplex virus types 1 and 2 by
indirect immunofluorescence.
J. Inf. Dis., 1974, 130, 63-66.
- FREYMUTH F., MOREL C., LONGSON A. & TANGUY M. - Anti-
bodies to Herpes simplex virus types 1 and 2 : A
comparative study using indirect haemagglutination
in carcinoma of the cervix and in other malignant
conditions.
Biomed. Express, 1975, 23, 271-275.
- FRIEDMANN M. & BENNET C.R. - Hemagglutination test
for detection of adenovirus antibodies.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1957, 94, 712-.
- FUCILLO D.A., MODER F.L., CATALANO J.R., VINCENT M.M. &
SEVER J.L. - Herpesvirus hominis types I and II.
A specific microdirect hemagglutination test.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1970, 133, 735-.
- GAJDUSEK D.C., ROBBINS M.L. & ROBBIN F.C. - Diagnosis
of Herpes simplex infections by means of comple-
ment fixation test.
J. Amer. Med. Ass., 1952, 149, 235-240.

- GOLOGAN R., CERNESCU C., MUTIN A. & GRUIA M. -
Comparative studies on some Herpes simplex virus strains with different locations. V. Serologic behaviour.
Rev. Roum. Virol., 1974, 25, 309-314.
- GOODHEAT C.R., PLUMMER G. & WARNER J.L. - Density difference of DNA of human Herpes simplex viruses types I and II.
Virology, 1968, 35, 473-.
- HALLIBURTON I.W., HILL E.A. & RUSSELL G.J. - Identification of strains of Herpes simplex virus by comparison of the density of their DNA using the preparation ultracentrifuge.
Arch. Virol. Austr., 1975, n° 2, 157-168.
- HAYWARD M.E. - Serological diagnosis of Herpes simplex infections.
Lancet, 1950, I, 856-858.
- HUDSON J.B., HOLLENBERG M.J., WILKIE I.S. & LEWIS B.J.-
Ultrastructural study of lesions induced in rabbit cornea by Herpes simplex virus types 1 and 2.
J. Inf. Dis., 1976, 133, 367-381.
- HURAUX J.N., BOUVIER A. & BRICOUT F. - Le titrage des anticorps anti-herpès par hémagglutination indirecte au cours des gingivo-stomatites de l'enfant.
Rev. Europ. Et. Clin. Biol., 1971, 16, 474-476.
- ITO M. & BARRON A.L. - Typing of isolates of Herpes simplex virus by mixed agglutination.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1974, 146, 41-45.
- JAWETZ E., COLEMAN V.R. & MERRILL E.R. - Studies of Herpes simplex virus. Immunological comparison of strains of Herpes simplex.
J. Immunol., 1955, 75, 28-34.
- JEANSSON S.-Differentiation between Herpes simplex virus type 1 and type 2 strains by immuno-electro-osmophoresis.
Microbiology, 1972, 24, 96-100.
- JEANSSON S. - Production of Herpes simplex antisera with increased type specificity in guinea-pigs by antibody suppression.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1974, 147, 788-794.

- JEANSSON S. - Preparation of type specific Herpes simplex antisera by an immunosorbent method.
Acta Path. Microbiol. scand., 1975, 83, 48-54.
- KIEFF E.D., BACHENHEIMER S.L. & ROIZMAN B. - Size, composition and structure of the deoxyribonucleic acid of Herpes simplex virus subtypes 1 and 2.
J. Virol., 1971, 8, 125-132.
- KILBOURNE E.D. & HORSFALL F.L. - Primary Herpes simplex infection of the adult with a note on the relation of Herpes simplex virus to recurrent aphthous stomatitis.
Arch. Intern. Med., 1951, 88, 495-502.
- KIMURA S., OTA F., NISHIKAWA M., FUKUI K. & YOSHIDA N. - Plaque formation by Herpes simplex virus in established calf kidney cells.
Jap. J. Microbiol., 1973, 17, 83-84.
- KURTZ J.B. - Specific IgG and IgM antibody responses in Herpes simplex virus infections.
J. Med. Microbiol., 1974, 7, 333-341.
- LANCZ G.J. - Herpes simplex viruses types 1 and 2. Type and strain specific characteristics affecting virus plaque formation.
Arch. ges. Virusforsch., 1974, 46, 36-43.
- LANGLOIS M. - Diagnostic biologique des affections à virus herpès types 1 et 2.
Thèse Médecine, Lyon, 1975.
- LEFKOWITZ S.S. - Application of passive hemagglutination methods for detection of antibody to viral antigen in hamsters bearing adenovirus type 12 tumors.
J. Immunol., 1968, 101, 611-.
- LEINIKKI P. - Immunofluorescence assay of Herpes virus type 1 and type 2 antibodies in rabbit sera.
Arch. ges. Virusforsch., 1971, 35, 349-355.
- LEINIKKI P. - Typing of Herpes virus hominis strains by indirect immunofluorescence and biological markers.
Acta Path. Microbiol. scand., 1973, 81, 65-69.

- LERNER M.A., LAUTER C.B., NOLAN D.C. & SHIPPEY M.J. - Passive hemagglutinating antibodies in cerebrospinal fluids in Herpes virus encephalitis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1972, 140, 1460-1466.
- LONGSON M. - A temperature marker test for the differentiation of strains of Herpes virus hominis. Ann. Inst. Pasteur, 1971, 120, 699-708.
- MANCINI G., CARBONARA A.O. & HEREMANS J.F. - Immunochemical quantitation of antigen by single radial immunodiffusion. Immunochemistry, 1965, 2, 235-254.
- MARKS-HELLMAN S. & HO M. - Use of biological characteristics to type Herpesvirus hominis types 1 and 2 in diagnostic laboratories. J. Clin. Microbiol., 1976, 12, 277-280.
- MOGENSEN S.C., TEINSNER B. & ANDERSEN H.K. - Focal necrotic hepatitis in mice as a biological marker for differentiation of Herpesvirus hominis type 1 and 2. J. Gen. Virol., 1974, 25, 151-155.
- MOGENSEN S.C. - Biological conditions influencing the focal necrotic hepatitis test for differentiation between Herpes simplex virus types 1 and 2. Acta Path. Microbiol. scand., 1976, 84, 154-158.
- NAHMIAS A.J. & DOWDLE W.R. - Antigenic and biologic differences in Herpes virus hominis. Progr. Med. Virol., 1968, 10, 110-150.
- NAHMIAS A.J., DOWDLE W.R., KRAMERS H., LUCE C.F. & MANSOUR S.C. - Antibodies to Herpes virus hominis types 1 and 2 in the rabbit. J. Immunol., 1968, 102, 956-962.
- NAHMIAS A.J., DOWDLE W.R., NAIB Z.N., HIGHSMITH A.K., HARWELL R.W. & JOSEY W. - Relation of pock size on chorio-allantoic membrane to antigenic type of Herpes virus hominis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1968, 127, 1022-.
- NAHMIAS A.J., NAIB Z.N. & JOSEY W.E. - Association of genital Herpes virus hominis to cervical cancer. Proc. First Intern. Congress Virology, Helsinki, Finland, July 19, 1968.

- NAHMIAS A.J., CHIANG W.T., DEL BUONO I. & DUFFEY A. -
Typing of Herpes virus hominis strains by a
direct immunofluorescence technique.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1969, 132, 386-390.
- NAHMIAS A.J., DOWDLE W.R., NAIB Z.N., JOSEY W.E. &
LUCE C. - Infection with Herpes virus hominis
type 1 and 2 in newborns.
J. Pediat., 1969, 75, 1194-1203.
- NAHMIAS A.J., JOSEY W.E., NAIB Z.N., LUCE C. &
GUEST B.A. - Antibodies to Herpes virus hominis
types 1 and 2. II. Women with cervical cancer.
Amer. J. Epidemiol., 1970, 91, 547-551.
- NAHMIAS A.J., DEL BUONO I., PIPKIN J., HUTTON R. &
WICKLIFFE C. - Rapid identification and typing
of Herpes simplex virus types 1 and 2 by a
direct immunofluorescence technique.
Appl. Microbiol., 1971, 22, 455-458.
- NAHMIAS A.J., SHORE S.L. & DEL BUONO I. - Diagnosis
by immunofluorescence of human viral infections
with emphasis on Herpes simplex viruses. in "Viral
immunodiagnosis".
Acad. Press, New York, 1974, 157-172.
- OH J.O., MOSCHINI G.B., OKUMOTO M. & STEVENS T. -
Ocular pathogenicity of types 1 and 2 herpes-
virus hominis in rabbits.
Inf. Immunity, 1972, 5, 412-413.
- PAULS F.P. & DOWDLE W.R. - A serologic study of Herpes
virus hominis strains by microneutralization test.
J. Immunol., 1967, 98, 941-947.
- PIRAINO F.F., DEDMAK G., ALTSHULER C. & PIERCE R. -
Rapid antigenic typing of Herpesvirus hominis.
Isolates on the surface of infected cells by kine-
tic binding of ¹²⁵I-labeled HVI antibodies.
Amer. J. Clin. Pathol., 1974, 62, 581-590.
- PLUMMER R.G. - Serological comparison of the Herpes
viruses.
Brit. J. Exp. Pathol., 1964, 45, 135-141.
- PLUMMER G., WANER J.L. & BOWLING C.P. - Comparative
studies of type 1 and type 2 Herpes simplex viruses.
Brit. J. Exp. 1968, 49, 202-208.

- PLUMMER G., WANER J.L., PHUANGSAB A. & GOODHEART C.R.-
Type 1 and type 2 Herpes simplex viruses :
serological and biological differences.
J. Virol., 1970, 5, 51-59.
- PLUMMER G., GOODHEART C.R., MIYAGI M., SKINNER G.R.B.,
THOULESS M.E. & WILDY P. - Herpes simplex viruses :
discrimination of types and correlation between
different characteristics.
Virology, 1974, 60, 206-216.
- POWELL K.L., BUCHAN A., SIM C. & WATSON D.H. - Type
specific protein in Herpes simplex virus envelope
reacts with neutralizing antibody.
Nature, London, 1974, 249, 360-364.
- RATCLIFFE H. - The differentiation of Herpes simplex
virus type 1 and type 2 by temperature markers.
J. Gen. Virol., 1971, 13, 181-183.
- RAWLS W.E., TOMPKINS W.A., FIGUEROA M. & MELNICK J.L. -
Herpes virus type 2 : Association with carcinoma
of the cervix.
Science, 1968, 161, 1255.
- RAWLS W.E., TOMPKINS W.A. & MELNICK J.L. - Associa-
tion of Herpes virus type 2 and carcinoma of the
uterine cervix.
J. Epidemiol., 1969, 89, 547-.
- RAWLS W.E., IWAMOTO K., ADAM E. & MELNICK J.L. - Mea-
surement of antibodies to Herpesvirus types 1 and
2 in human sera.
J. Immunol., 1970, 104, 599-606.
- RAWLS W.E., GARFIELD C.H., SETH P. & ADAM E. - Serolo-
gical and epidemiological considerations of the
role of Herpes simplex virus type 2 in cervical
cancer.
Cancer Res., 1976, 36, part 2, 829-835.
- ROSS C.A.C. & STEVENSON I. - Herpes simplex meningo-
encephalitis.
Lancet, 1961, 11, 682-.
- SCHMIDT N.J., FORGHANI B. & LENNETTE E.H. - Type speci-
ficity of complement-requiring and immunoglobulin M
neutralizing antibody in initial Herpes simplex
virus infections of humans.
Inf. Immunity, 1975, 12, 728-732.

- SMITH W.J. & GLORIOSO J.C. - Effect of cross-immunization on monotypic antibody responses to Herpes simplex virus types 1 and 2.
J. Immunol., 1976, 116, 898-903.
- SCHNEWEIS K.E. - Serologische Untersuchungen zur Typendifferenzierung des Herpes Virus hominis.
Z. Immunol. Forsch., 1962, 124, 24-.
- SCHNEWEIS K.E. - Die Typen 1 und 2 des Herpes simplex Virus bei Verschiedenen Krankheitsbildern.
Dtsch Med. Wschr., 1967, 92, 2313-2314.
- SCHNEWEIS K.E. & NAHMIAS A.J. - Antigens of Herpes simplex virus type 1 and 2. Immunodiffusion and inhibition of passive hemagglutination studies.
Z. Immunol. Forsch., 1971, 141, 471-487.
- SCHNEWEIS K.E., REYNOLDS J.D., ROSSKOPP D. & SOMMERHAUSER H. - Vergleichende Typisierung von Herpes simplex virus -stämmen mit serologischen und biologischen Methoden.
Z. Bakteriol. I. Abt. Orig. A, 1974, 227, 331-338.
- SCHUBLADZE A.K. & CHZHU-SHAN K. - Study on the antigenic properties of Herpes virus.
Vopr. Virusol., 1959, 4, 80-85.
- SCHUBLADZE A.K., MAEUSKAIA T.M., ANAN'EV V.A. & VOLKOVA V.N. - On some features of different strains of Herpes virus. I. Antigenic properties.
Vopr. Virusol., 1960, 5, 735-740.
- SCOTT (VERNON) L., FRANCIS G., FELTON M. & BARNAY J.A. - Hemagglutination with Herpes simplex virus.
J. Immunol., 1957, 78, 211-212.
- SCOTT Mc NAIR T.F., McLEOD D.L. & TOKUMARU T. - A biologic comparison of two strains of Herpesvirus hominis.
J. Immunol., 1961, 86, 1-12.
- SETH P., RAWLS W.E., DUFF R., RAPP F., ADAM E. & MELNICK J.L. - Antigenic differences between isolates of Herpesvirus type 2.
Intervirology, 1974, 3, 1-14.

- SEVER J.L. - Application of a micro-technique to viral serological investigations.
J. Immunol., 1962, 88, 320-329.
- SHINKAI K. & YOSHINO K. - Complement requirement of neutralizing antibodies in different classes of immunoglobulin appearing in rabbits and guinea-pigs after primary and booster immunization with Herpes simplex virus.
Jap. J. Microbiol., 1975, 19, 25-34.
- SIM C. & WATSON D.H. - The role of type specific and cross reacting structural antigens in the neutralization of Herpes simplex virus types 1 and 2.
J. Gen. Virol., 1973, 19, 217-233.
- SOHIER R. - "Diagnostic des maladies à virus".
Flammarion Ed., Paris, 1964, 202-309.
- SPEAR P. & ROIZMAN B. - Proteins specified by Herpes simplex virus. V. Purification and structural proteins of the Herpes virion.
J. Virol., 1972, 9, 143-159.
- TARRO G. & SABIN A.B. - Non-virion antigens produced by Herpes simplex virus 1 and 2.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1973, 70, 1032-1036.
- TIMBURY M.C. & SUBAK-SHARPE J.H. - Genetic interactions between temperature-sensitive mutants of types 1 and 2 Herpes simplex viruses.
J. Gen. Virol., 1973, 18, 347-357.
- TOKUMARU T. - Studies of Herpes simplex virus by the gel diffusion technique. I. Distribution of precipitating antibodies among human sera.
J. Immunol., 1965, 95, 181-188.
- VAHLNE A.G. & BLOMBERG J. - Purification of Herpes simplex virus.
J. Gen. Virol., 1974, 22, 297-302.
- WESTERGAARD B.F. - Crossed immuno-electrophoretic characterization of Herpesvirus hominis type 1 and 2 antigens.
Acta Pathol. Microbiol. scand., 1973, 81, 808-810.

- WESTMORELAND D., WATKINS J.F. & RAPP F. - Demonstration of a receptor for IgG in syrian hamster cells transformed with Herpes simplex virus.
J. Gen. Virol., 1974, 25, 167-170.
- WHEELER C.E., BRIGGAMAN R.A. & HENDERSON R.R. - Discrimination between two strains (types) of Herpes simplex virus by various modifications of the neutralization test.
J. Immunol., 1969, 102, 1179-1192.
- YANG J.P.S., WEN-TSUO CHIANG, GALE J.L. & CHEN N.S.T. - A chick-embryo cell microtest for typing of Herpes virus hominis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1975, 148, 324-328.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

MATERIEL ET METHODES	15
<u>CHAPITRE I - MATERIEL UTILISE</u>	17
<u>I . LES VIRUS .</u>	17
A - SOUCHES DE REFERENCE -	17
B - SOUCHES DE TRAVAIL -	17
C - PREPARATION DES ANTIGENES -	18
<u>II . LES CELLULES .</u>	19
<u>III . LES SERUMS .</u>	20
A - SERUM DE REFERENCE	20
B - SERUMS PREPARES AU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE - IMMUNOLOGIE -	20
C - SERUMS DE TRAVAIL PREPARES A L'INSTITUT D'HYGIENE -	21
<u>CHAPITRE II - METHODES</u>	29
<u>I . REACTION D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE .</u>	29
A - LA REACTION PROPREMENT DITE -	29
B - MISE AU POINT DE LA TECHNIQUE D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE POUR L'IDENTIFICATION DES SOUCHES D'HERPES VIRUS TYPES 1 ET 2 ET POUR LE SERODIAGNOSTIC DES INFECTIONS HERPETIQUES -	31
C - APPLICATION DE LA TECHNIQUE D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE A L'IDENTIFICATION DES SOUCHES DE REFERENCE D'HERPES VIRUS TYPES 1 ET 2 -	53
<u>II . REACTION DE NEUTRALISATION .</u>	59
<u>III . FRACTIONNEMENT DES SERUMS .</u>	61
A - PREPARATION DU GRADIENT -	61
B - DEPOT DE L'ECHANTILLON -	62
C - CENTRIFUGATION -	62
D - COLLECTION DES FRACTIONS -	62
E - MISE EN EVIDENCE DES IMMUNOGLOBULINES DANS LES FRACTIONS PAR IMMUNO DIFFUSION RADIALE -	63
RESULTATS	65
<u>I . ETUDE DE LA REPONSE ANTICORPS A DIFFERENTS VIRUS ET EN FONCTION DE L'ANIMAL .</u>	67
A - IMMUNISATION PAR VOIE INTRAMUSCULAIRE -	67

B - IMMUNISATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE -	68
II . <u>APPLICATION DE LA REACTION D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE</u> <u>A L'IDENTIFICATION DES SOUCHES DE REFERENCE PAR LES</u> <u>SERUMS DE LAPINS .</u>	70
A - SERUMS OBTENUS PAR IMMUNISATION PAR VOIE INTRAMUSCULAIRE -	70
B - SERUMS OBTENUS PAR IMMUNISATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE -	75
III . <u>REPONSE IMMUNOLOGIQUE DE L'HOMME A L'INFECTION</u> <u>HERPETIQUE JUGEE PAR LA PRODUCTION D'ANTICORPS</u> <u>DETECTES PAR HEMAGGLUTINATION PASSIVE .</u>	78
A - MALADES CHEZ LESQUELS UN VIRUS HERPES A ETE ISOLE -	78
B - VALEUR DU DIGANOSTIC CHEZ DES SUJETS ATTEINTS D'INFECTIONS CLINIQUEMENT DIAGNOSTIQUEES SANS ISOLEMENT DU VIRUS -	86
IV . <u>APPLICATION DE LA REACTION DE NEUTRALISATION A</u> <u>L'IDENTIFICATION DES SOUCHES DE REFERENCE .</u>	98
A - SERUMS OBTENUS PAR IMMUNISATION PAR VOIE INTRAMUSCULAIRE -	98
B - SERUMS OBTENUS PAR IMMUNISATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE -	102
V . <u>ETUDE DU ROLE DES ANTICORPS ANTI CELLULES RK 13 DANS</u> <u>LES REACTIONS D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE ET DE</u> <u>NEUTRALISATION .</u>	105
VI . <u>ESSAI D'AMELIORATION DE LA SPECIFICITE PAR ABSORPTION</u> <u>DES SERUMS SUR DES HEMATIES SENSIBILISEES PAR DES</u> <u>VIRUS HERPES .</u>	107
VIII . <u>ETUDE DES SERUMS NON ABSORBES ET ABSORBES SUR</u> <u>CELLULES RK 13 APRES FRACTIONNEMENT .</u>	110
A - REACTION D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE -	110
B - REACTION DE NEUTRALISATION -	128
C - MISE EN EVIDENCE DES IMMUNOGLOBULINES DANS LES FRACTIONS DES SERUMS PAR LA TECHNIQUE D'IMMUNODIFFUSION RADIALE -	129
DISCUSSION	141
I . <u>PREPARATION D'IMMUNSERUMS PERMETTANT LA DIFFERENCIATION</u> <u>DES SOUCHES .</u>	143
A - VOIE D'IMMUNISATION -	143

B - DOSE DE VIRUS INOCULEE -	145
C - CHOIX DE LA SOUCHE LA PLUS IMMUNOGENE ET LA PLUS SPECIFIQUE -	146
II . <u>CHOIX DE LA TECHNIQUE PERMETTANT LA DIFFERENCIATION DES SOUCHES .</u>	149
III . <u>COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS EN HEMAGGLUTINATION PASSIVE ET NEUTRALISATION AVEC LES FRACTIONS DES SERUMS .</u>	155
IV . <u>COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS EN HEMAGGLUTINATION PASSIVE, FIXATION DU COMPLEMENT ET NEUTRALISATION POUR LE SERODIAGNOSTIC DES INFECTIONS A HERPES TYPES 1 ET 2 .</u>	158
- RESULTATS OBTENUS CHEZ LES SUJETS PRESUMES ATTEINTS D'INFECTIONS HERPETIQUES -	158
V . <u>COMPARAISONS DE NOS RESULTATS AVEC LES RESULTATS PUBLIES .</u>	177
- RESULTATS OBTENUS CHEZ DES SUJETS INFECTES -	177
CONCLUSIONS	183
BIBLIOGRAPHIE	189

Association Amicale des Etudiants en Pharmacie de Lyon
8, avenue Rockefeller - 69008 LYON - Tél. (78) 74-40-37